

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln (Chefärztin: Prof. Dr. med. I. Boll)

DIE WIRKUNG VON 1 μ g/ml CORTICOSTERON
AUF DAS NORMALE
MENSCHLICHE KNOCHENMARK IN VITRO

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnärztin Jutta Zimny, geb. Krause
aus Bevensen

1976

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln (Chefärztin: Prof. Dr. med. I. Boll)

DIE WIRKUNG VON 1 μ g/ml CORTICOSTERON
AUF DAS NORMALE
MENSCHLICHE KNOCHENMARK IN VITRO

Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnärztin Jutta Zimny, geb. Krause
aus Bevensen

Referent: Professor Dr. med. Irene Boll

Korreferent: Professor Dr. med. Horst Brücher



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 21. 10. 1976

Druck: Zentrale Universitätsdruckerei, V a A 4

Meinen Eltern
gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546604_0055

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. Einleitung	4
2. Fragestellung	12
3. Material und Methode	13
4. Statistische Auswertung	17
5. Ergebnisse	20
6. Zusammenfassung der Ergebnisse	41
7. Beurteilung der karyologischen Kurve	54
8. Diskussion	58
9. Zusammenfassung der Arbeit	63
10. Literaturverzeichnis	64
11. Anhang	72

1. EINLEITUNG

In der Nebennierenrinde werden drei verschiedene Hormongruppen gebildet. Die Glucocorticosteroide, die Mineralocorticosteroide und die Androcorticosteroide. Bei allen handelt es sich um Steroide mit 21 Kohlenwasserstoffatomen und einer typischen zweigliedrigen Kohlenstoffseitenkette am C 17 - Atom.

Die Biosynthese der Steroide beginnt mit dem Acetatmolekül, das unter dem Einfluß von bestimmten Enzymen über mehrere Stufen zum Cholesterin aufgebaut und weiter zum Progesteron umgewandelt wird. Welches Hormon anschließend gebildet wird, hängt von den jeweils vorhandenen speziellen Fermentsystemen ab, die am Progesteron angreifen. Progesteron ist somit die Muttersubstanz der Nebennierenrinden-Hormone.

Eine Gruppe strukturähnlicher Steroidhormone bezeichnet man als Glucocorticoide, deren gemeinsame physiologische Hauptwirkung darin besteht, daß sie die Konzentration der Blutglucose erhöhen.

Eines der Glucocorticoide ist das Corticosteron. Die Synthese findet in der ACTH-abhängigen Zona fasciculata der Nebennierenrinde statt. Nach neueren Ergebnissen der Biosyntheseforschung (35) kann weder an der strengen Gruppeneinteilung, nach Gluco-, Mineralo- und Androcorticoiden, noch an der schematischen Zuordnung ihrer Bildung zu verschiedenen Gewebsschichten in der Nebennierenrinde festgehalten werden. Auch die Wirkungen der einzelnen Substanzen überschneiden sich.

Es gelang z. B. der Nachweis, daß Corticosteron in allen Schichten der Nebennierenrinde gebildet werden kann.

Zur Geschichte des Corticosterons sei nur kurz folgendes zu bemerken: 1929 gelang es, Extrakte aus der Nebennierenrinde herzustellen. Sie wurden unabhängig von HARTMANN 1930, von STEWART und ROGOFF 1927 und von SWINGLE und PFIFFNER 1931 beschrieben. Für die praktische Therapie waren sie noch nicht zugänglich. 1936 wurde Corticosteron als erstes Rindenhormon isoliert. 1938 gelang die Synthese des Desoxicorticosterons, des ersten für die Therapie vollwertigen Steroids. Damit konnte der Morbus Addison behandelt werden. 1939 isolierte REICHSTEIN Cortison, das 1948 von HENCH in die Therapie rheumatischer Erkrankungen eingeführt worden war. In der weiteren Zeit begann eine intensive Suche nach Derivaten der natürlichen Glucocorticoide mit dem Ziel, wirksamere und ungefährlichere Substanzen zu finden. Durch das breite biologische Wirkungsspektrum des Cortisols und Cortisons hatten sich zahlreiche Nebenwirkungen eingestellt, bedingt durch die Langzeitanwendung und der erforderlichen hohen Dosierung. Die Forschungen führten dann zu den synthetischen Glucocorticoiden, bei denen die unerwünschten Wirkungsqualitäten zugunsten der therapeutisch wertvollen in den Hintergrund traten. Aber auch hier mußte man mit zum Teil gefährlichen Nebenwirkungen rechnen. Es können auftreten:

- 1) Eiweißverlust mit anschließender Osteoporose
- 2) Hypertonie
- 3) Thromboseneigung
- 4) Manifestierung eines "Steroid-Diabetes"
- 5) Unterdrückung der immunologischen Abwehrmechanismen
- 6) Glaukom
- 7) verstärkter Fettansatz

- 8) Steroid-Akne
- 9) Haarausfall
- 10) Veränderung der Stimmungslage (Euphorie, eventuelle Suchtgefahr)

Auf Grund dieser Wirkungen sollte die Indikation sehr streng gefaßt werden.

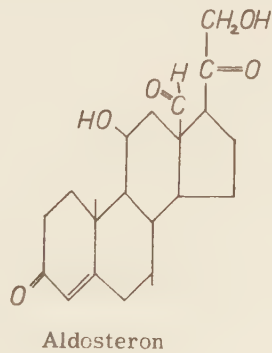
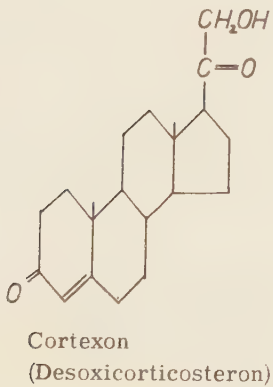
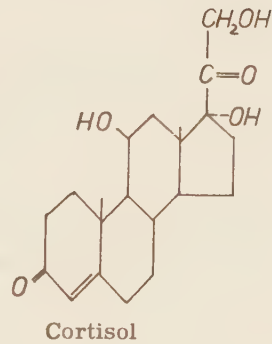
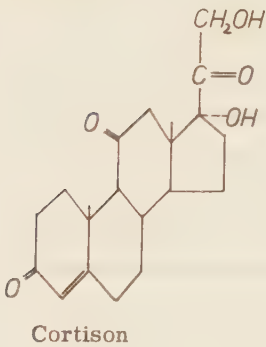
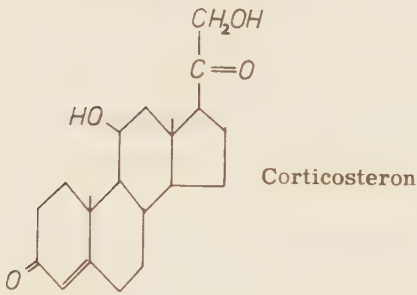
Aussagen über die Wirkungsqualitäten des Corticosterons im Unterschied zu anderen Corticosteroiden findet man in der Literatur nur selten. Es hängt wohl damit zusammen, daß das Corticosteron beim Menschen mengenmäßig keine große Rolle spielt, da es nur ein zehntel der Menge des Cortisols ausmacht, nämlich $1 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ Blutplasma.

Auf Grund verschiedener Versuchsmethoden konnten die Wirkungen der verschiedenen Corticoide auf den Organismus untersucht werden (3).

Benutzt man den sogenannten Glycogentest, der darauf beruht, daß man einem adrenaletomierten Tier, das nach längerem Hungern kein Glycogen in der Leber hat, eine gewisse Dosis eines Corticosteroids injiziert und nach drei oder vier Stunden den Glycogengehalt der Leber bestimmt, dann findet man, daß die am C11-Atom oxydierten Corticoide, Cortison, Cortisol und Corticosteron, wirksam sind. Cortexon hat fast keine Wirkung, während Aldosteron dazwischen steht. Man bezeichnet deshalb die drei erstgenannten Corticosteroide auch als Glucocorticosteroide.

Behandelt man adrenaletomierte Tiere mit verschiedenen aus der Nebennierenrinde isolierten Corticosteroiden, so reagieren sie in verschiedener Art und Weise. Aldosteron und Cortexon sind am wirksamsten im Überlebenstest. Aber auch das Corticosteron zeigt noch eine erhebliche Wirkung auf das Überleben, während Cortisol und Cortison kaum wirk-

Die chemische Struktur der im Text genannten Nebennieren-
rindenhormone lautet:



sam sind. Man nimmt an, daß die mineralotrope Wirkung des Corticosterons auf das Fehlen der 17 α -Hydroxyl-Gruppe zurückzuführen ist, die bei allen anderen Glucocorticosteroiden vorhanden ist.

Corticosteron besitzt eine salzretinierende Wirkung, die bei Cortison und Cortisol nicht vorhanden ist. Diese Elektrolytwirkung ist beim Aldosteron etwa 30 mal stärker ausgeprägt als beim Cortexon (3).

Zu den charakteristischen Veränderungen nach Adrenalektomie gehört die Abnahme des Natriums und die Zunahme des Kaliums im Blutplasma. Corticosteroide stellen die physiologischen Verhältnisse wieder her. Dabei wirken Aldosteron und auch Cortexon sehr intensiv, während die am C11-Atom oxidierten Corticosteroide erst nach längerer kontinuierlicher Behandlung wirken, wobei das Corticosteron schneller zu wirken beginnt als Cortison und Cortisol.

Cortison hemmt die Entzündungsprozesse. Das hängt mit der Hemmwirkung auf die Zellen des Bindegewebes zusammen. So wird nach Schädigung der Haut oder der Gelenke kein Fibrin gebildet und es entsteht nach Cortisoninjektion kein Ödem. Diese Wachstumshemmung ist eine Folge der katabolischen Wirkung von Cortison auf das Eiweiß der Zellen, das dazu benutzt wird, um Glucose zu bilden. Diesen Prozeß nennt man Gluconeogenese. Cortisol und Cortison zeigen den stärksten Entzündungshemmeeffekt. Auch Corticosteron wirkt antiphlogistisch, jedoch nicht so stark. Cortexon zeigt keinen Effekt, während Aldosteron in sehr geringen Dosen die Granulombildung fördert.

Corticosteron steht somit in seiner biologischen Wirkung zwischen Aldosteron einerseits und Cortisol andererseits. Das Hormon besitzt neben der antiphlogistischen eine re-

lativ geringe antianabole und mäßig mineralotrope Wirkung (3).

Heute richten sich die therapeutischen Hoffnungen auf anti-phlogistisch wirksame Derivate des Corticosterons, bei denen die antianabolen Wirkungen nicht in gleichem Maße zunehmen wie die entzündungswidrigen. Ein therapeutisch brauchbarer Stoff dieser Art ist z. B. das Fluorcortolon.

Die Glucocorticoide wirken auf Zellen und Gewebe. So wird nach in vitro-Versuchen die Mitoseaktivität und das Wachstum von lymphatischen Zellen vermindert (14, 25, 38, 49). Das gleiche gilt auch für Thymus-, Knochenmark-, Fibroblasten-, Epidermis-, Leber- und Tumorgewebe (41, 32, 46, 37, 57, 30). Die Glucocorticoide setzen in Knochenmark-Kulturen die Umwandlung und Ausreifung myeloischer Zellen herab und vermindern bei Leukämien die Zellemigration (7, 36, 55). Es konnte eine Verlängerung der Überlebensdauer an Lymphocyten und Fibroblasten durch Cortisol nachgewiesen werden (2, 40). Weitere in vitro-Untersuchungen führten zu einer Verringerung der Gesamtzellzahl um 25 % (23) und als Ursache wurde ein Eingriff in die Atmungskette diskutiert (34).

Auch in vivo konnte eine massive Atrophie des lymphatischen Gewebes festgestellt werden (1). Das führte zur Abnahme des Lymphocytennachsches und zu einem vermehrten Lymphocytenabbau (29), wobei die Überlebenszeit der Lymphocyten durch Cortisol verlängert wurde (21).

Weiterhin konnte man in in vivo-Versuchen nachweisen, daß die Zahl der zirkulierenden Leucocyten anstieg, während die Lymphocytenzahl sank (5, 22, 53).

Der Einfluß der Glucocorticoide auf die Proliferationskinetik der Erythropoese und Granulopoese war ebenfalls noch nicht ganz abgeklärt.

Einige Autoren (16, 32) berichteten von einer Proliferationshemmung der Granulopoese und Erythropoese durch Cortison bzw. Prednisolon. Auch beim Menschen wurde dies durch hohe Prednisolongaben für die Granulopoese nachgewiesen, während eine niedrige Dosierung zu einer Regenerationsförderung in der Granulopoese führte (43). Andere Autoren (42) sprachen von einer Proliferationsförderung durch Cortisol einerseits und Cortisol und ACTH-Gaben andererseits (24, 27, 45).

BOLL und ihre Mitarbeiter (9) fanden nur bei sehr hohen Konzentrationen von Prednisolon eine Proliferationsförderung in der Granulopoese. Mit geringen Konzentrationen war dies nur in einzelnen Kulturen nachweisbar. In der Erythropoese kam es nur bei normalem Knochenmark zu einer Reifungsbeschleunigung. Auch Untersuchungen von anderen Autoren (31, 28) bestätigten eine stimulierende Wirkung der Glucocorticosteroide auf die Granulopoese. Durch Zusatz von 0,25 µg/ml Prednisolonacetat bzw. Triamcinolon erreichten WEISSENFELS, BOLL und U. und B. CHRISTOPH (58, 17, 18) jedoch in vitro eine Proliferationshemmung der Granulopoese und der Erythropoese. SCHELLACK (52) wies bei der gleichen Zusatzkonzentration von Prednisolonsulfat eine Proliferationsförderung in der Erythropoese nach. In der Granulopoese stellte er, wie auch die anderen, eine schwache Reifungshemmung fest. Durch Zusatz von 0,25 µg/ml Dexamethasonsulfat erzielte WILDE (59) eine Proliferationsförderung der Erythropoese und eine Regenerationsförderung in der Granulopoese. Durch Zusatz von 0,25

μ g/ml Fluor cortolon wies KOCH (37) für die Granulopoese eine signifikante Regenerationsförderung und eine Regenerationshemmung der Erythropoese nach. Die Reifung wurde durch den Hormonzusatz sowohl in der Granulopoese als auch in der Erythropoese signifikant gehemmt. Für die Retikulumzellen konnte eine signifikante Vermehrung und für die Lymphocyten eine statistisch gesicherte Abnahme erzielt werden. Bei Zusatz von 0,25 μ g/ml Corticosteron zeigte GLÖCKLER (26), daß die Reifung der Erythropoese nur wenig verändert wurde, während die Reifung der Granulopoese gehemmt wurde. Die Regeneration der Erythropoese wurde vermindert. Bei der Granulopoese wurde die Regeneration nicht verändert. Diese geringe Wirkung wurde auf die niedrige Dosis zurückgeführt. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit eine höhere Dosierung gewählt.

2. FRAGESTELLUNG

Aus der oben angegebenen Literatur ist zu ersehen, daß die Untersuchungsergebnisse, die zu einem Teil auf in vivo-Ver suchen (1, 5, 22, 53), zum anderen Teil auf in vitro-Untersuchungen (14, 25, 38, 32, 46, 57, 30, 47, 51, 39) beruhten, mit den verschiedenen Cortisonderivaten unterschiedlich ausfielen. Auch bei gleicher Zusatzkonzentration und gleichen Untersuchungsbedingungen in vitro differierten die Ergebnisse für die einzelnen Derivate (58, 17, 18, 52, 59, 26).

In dieser Arbeit soll die direkte Wirkung von Corticosteron auf normales menschliches Knochenmark in vitro, d. h. ohne Beeinflussung durch humorale oder nervale Faktoren, geprüft werden. Um die Beeinflussung des Geschehens im Knochenmark beurteilen zu können, wurden die Reifung und die Regeneration der Knochenmarkzellen durch Reifungskurven, Mitoseindices, G/E-Indices und karyologische Kurven im Vergleich mit parallel angelegten Knochenmarkkulturen ohne medikamentösen Zusatz dargestellt. Es wurde eine viermal höhere Zusatzkonzentration, nämlich 1 μ g/ml Corticosteron, als bei GLÖCKLER (26) gewählt, da eine Wirkungsäquivalenz mit den anderen Versuchen der Serie angestrebt wurde. Versuche, die Äquivalenzdosen zwischen Corticosteron und Prednisolon oder anderen Glucocorticoiden zu ermitteln, sind bislang noch nicht durchgeführt worden. Dies ist auf die geringe glucocorticoide Wirkung des Corticosterons und auf das mengenmäßig geringe Vorkommen des Hormons im menschlichen Körper im Gegensatz zum Cortisol zurückzuführen.

3. MATERIAL UND METHODE

Aus dem Sternalpunktat von Patienten ohne Leukämie wurden Knochenmarkkulturen nach der Technik von CARREL und der von BOLL modifizierten Methode angelegt (8). Die Patienten standen unter keiner Corticosteroid-Therapie.

Unter sterilen Bedingungen stellte man ein Medium aus fünf Tropfen Eigenplasma, drei Tropfen Eigenserum, einem Tropfen Corhormon^R dreimal verstärkt und einem Tropfen Corticosteron-Lösung (1 µg/ml) her. Dieser Ansatz wurde auf einen Objektträger gebracht und koagulierte. Auf dieses Koagulum wurde ein Knochenmarkbröckchen des Sternalpunktates gesetzt und mit einem Serumtröpfchen benetzt, um das Austrocknen der Zellen zu verhindern. Anschließend wurde ein Hohlschliffobjektträger mit Vaseline über dem Koagulum befestigt. Daraufhin wurde die nun fertige Kultur umgedreht und die Deckgläser wurden luftdicht mit Hartparaffin verschlossen. Dann erfolgte die Inkubation im Brutschrank bei + 37 Grad Celsius.

Von jedem Sternalpunktat wurde ein Originalausstrich, eine Serie von Kontrollkulturen (sie enthalten keine Cortiosteron-Lösung) und eine Serie von Kulturen mit Corticosteron-Zusatz angefertigt. Die Kontrollkultur setzten wir mit fünf Tropfen Eigenplasma, vier Tropfen Eigenserum und einem Tropfen Corhormon^R an.

Nach 24, 48 und 72 Stunden wurden Ausstriche angefertigt und nach der Methode von PAPPENHEIM gefärbt. So ergaben sich mit dem Originalpunktatausstrich pro Versuchsanatz sieben Ausstriche.

Von jedem Präparat wurden etwa 2.000 Zellen gezählt, so daß dem Gesamtergebnis ungefähr 70.000 Zellen zu Grunde liegen.

Die Zellen wurden im aufgelockerten Randgebiet des Ausstriches ausgezählt, um eine größtmögliche Genauigkeit bei der Differenzierung der einzelnen Zellformen zu erreichen. Diese Differenzierung der Zellen des menschlichen Knochenmarks erfolgt in folgende Typen nach BOLL (12):

- 1) In der Erythropoese wurden folgende Zellen unterschieden (10):
 - a) Proerythroblasten
 - b) basophile Erythroblasten
 - c) polychromatische Erythroblasten
 - d) oxyphile Erythroblasten
 - e) reife Erythroblasten
- 2) Zum retikulo-endothelialen System wurden die nachstehenden Zellarten zugeordnet:
 - a) Plasmazellen
 - b) Plasmoblasten
 - c) Retikulumzellen (kleine und große)
 - d) phagocytierenden Retikulumzellen
- 3) Megacaryocyten
- 4) Zum monocytären System rechnete man:
 - a) Promonocyten
 - b) Monocyten
- 5) Zu dem lymphatischen System gehörten die folgenden Zellen:

- a) Lymphocyten
 - b) Lymphoblasten
- 6) Bei der Granulopoese wurden die Zellformen unterschieden (8):
- a) Myeloblasten
 - b) Promyelocyten
 - c) Myelocyten (eosinophile, basophile)
 - d) Metamyelocyten
 - e) Neutrophile Stabkernige
 - f) Neutrophile Segmentkernige
 - g) Eosinophile reife Zellen
 - h) Basophile reife Zellen

Bei der Differenzierung der einzelnen Zellformen wurden auch deren Mitosephasen beurteilt. So können sich in der Erythropoese alle Zellen bis auf die reifen Erythroblasten teilen. In der Granulopoese sind die Myeloblasten, Promyelocyten, Myelocyten, Metamyelocyten und Promonocyten teilungsfähig. Je nach der Regenerationsaktivität des Knochenmarks fand man eine unterschiedliche Anzahl der Mitosen in den jeweiligen Zellarten und Reifestufen der Zellen (11, 6). Man unterscheidet sechs Mitoseformen: Die Prophase, frühe Metaphase, späte Metaphase, die Anaphase, Telophase und die Rekonstruktionsphase. Aus dem zugrundeliegenden Zahlenmaterial der Untersuchungen wurden folgende Kurven erstellt und Indices berechnet:

1) Reifungskurven

Es wurde graphisch der prozentuale Anteil der einzelnen Zellklassen der verschiedenen Reifestadien, ge-

trennt nach Erythropoese und Granulopoese, in Abhängigkeit von der Kulturdauer wiedergegeben.

2) G/E-Index

Dieser Index diente dazu, das Verhältnis aller gezählten Zellen der Granulopoese zu allen der Erythropoese darzustellen.

3) Mitoseindex

Dieser Index drückte das Verhältnis der sich in einer Mitosephase befindenden Zellen zur Gesamtzahl der teilungsfähigen Zellen in promille aus.

4) Karyologische Kurven

Mit diesen Kurven wurde graphisch die prozentuale Verteilung der Mitosephasen für alle Kontroll- und Zusatzpräparate aufgezeigt.

4. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Es wurde ein mathematisch-statistisches Verfahren gewählt, das geeignet ist, beim Vergleich zweier Zahlenreihen festzustellen, ob ein signifikanter Unterschied besteht. Hierfür eignete sich der χ^2 -Test. In ihm wurde nachgewiesen, daß die errechneten Werte nicht aus der gleichen Gesamtmenge stammen konnten (4). Es konnte entschieden werden, ob die Unterschiede zwischen den Reifungskurven der Granulopoese der Kontrollkulturen und den Reifungskurven der Zusatzkulturen mit Corticosteron nur zufällig auftreten, oder ob sie als statistisch signifikant zu bezeichnen sind.

Für die Erythropoese wurden keine Berechnungen durchgeführt, da die Ergebnisse der Versuchsreihen zu unterschiedlich ausfielen. (Auf den graphischen Abbildungen der einzelnen Fälle fand man teilweise eine Linksverschiebung oder eine Rechtsverschiebung der Kurve, so daß sich bei der Anfertigung der Mittelwertskurve die Kurve mit Zusatz derjenigen ohne Zusatz angleicht.)

Der χ^2 -Test wurde auch zur Signifikanzberechnung der lymphopoetischen und retikulären Zellen, der Mitoseindices und der Verteilung der Mitosephasen herangezogen. Bei der Berechnung der Signifikanz für die Mitoseindices erfuhr der χ^2 -Test eine Abwandlung. Hierbei waren die ausgezählten Werte oft so klein, so daß der χ^2 -Test nur nach einer empirischen Korrektur angewandt werden konnte (YATE'sche Korrektur). Diese Korrektur bezog sich auf die Beobachtungswerte und wurde nach dem folgenden Prinzip durchgeführt: War der Beobachtungswert kleiner als der Erwartungswert, wurde der Beobachtungswert um 0,5 erhöht, war er größer,

wurde er um 0,5 verkleinert. Insgesamt durfte die Randsumme nicht verändert werden.

Mit den errechneten χ^2 -Werten wurde dann unter Berücksichtigung der entsprechenden Freiheitsgrade aus einer logarithmischen Kurve, die von PÄTAU (44) zusammengestellt wurde, der Wahrscheinlichkeitswert p abgelesen.

Der Freiheitsgrad ist definiert als die Anzahl der Klassen minus eins multipliziert mit der Anzahl der Gruppen minus eins. (Eine Klasse entspricht z. B. der Kulturzeit 24h, 48h. Die Zelltypen bezeichnet man als Gruppen.)

Eine Berechnung war dann signifikant, wenn nach dem berechneten χ^2 -Wert der abgelesene p-Wert kleiner als 0,01 und nicht größer als 0,05 war.

Erläuterungen zu den nachfolgenden Abbildungen:

Auf der Abszisse ist die prozentuale Verteilung der Reifestadien der Zellen, getrennt nach Erythropoese und Granulopoese, additiv aufgetragen. Die eingezeichneten Intervalle stellen folgendes dar:

1) Zellen der Erythropoese in %

PE = Proerythroblasten

bE = basophile Erythroblasten

pE = polychromatische Erythroblasten

oE = oxyphile Erythroblasten

rE = reife Erythroblasten

- 2) Zellen der Granulopoese in %
- Mb = Myeloblasten
 - Pm = Promyelocyten
 - My = Myelocyten
 - eos = eosinophile Myelocyten
 - bas = basophile Myelocyten
 - Pon = Promonocyten
 - MM = Metamyelocyten
 - Stab = Stabkernige
 - Seg = neutrophile Segmentkernige
 - Eos = eosinophile Segmentkernige
 - Bas = basophile Segmentkernige
 - Mon = Monocyten

_____ Kontrollkulturen

----- Corticosteronzusatz

Die Prozentwerte der Promyelocyten, der eosinophilen Myelocyten und die Werte der Monocyten und der eosinophilen und basophilen Segmentkernigen sind nicht getrennt, sondern gemeinsam ins Diagramm eingetragen worden, um die Übersichtlichkeit der Reifungskurven nicht zu gefährden. Auf der Ordinate wurde die den einzelnen Versuchen entsprechende Kultivierungszeit vermerkt. Man begann mit der Stunde Null (dem Originalpräparat) und dann fortlaufend mit 24, 48 und 72 Stunden.

5. ERGEBNISSE

Versuch I:

Knochenmark der Patientin F, M.: 67 Jahre

Klinische Diagnose: Rechtsherzinsuffizienz, äußere
Hämorrhoiden, Colitis, leichte
Blutungsanämie.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion:

0,25 mg/die Lanicor^R per os

Blutbild am Tage der Sternalpunktion:

Hb	= 13,6 g %
Erythrocyten	= 4,51 Mill/ μ l
Hb _E	= 31,1 pg
Thrombocyten	= 163000 / μ l
Leukocyten	= 5300 / μ l
Stabkernige	= 8 %
Segmentkernige	= 74 %
Lymphocyten	= 13 %
Monocyten	= 4 %
atypische mononukleäre Zellen	= 1 %

Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit: 26/45

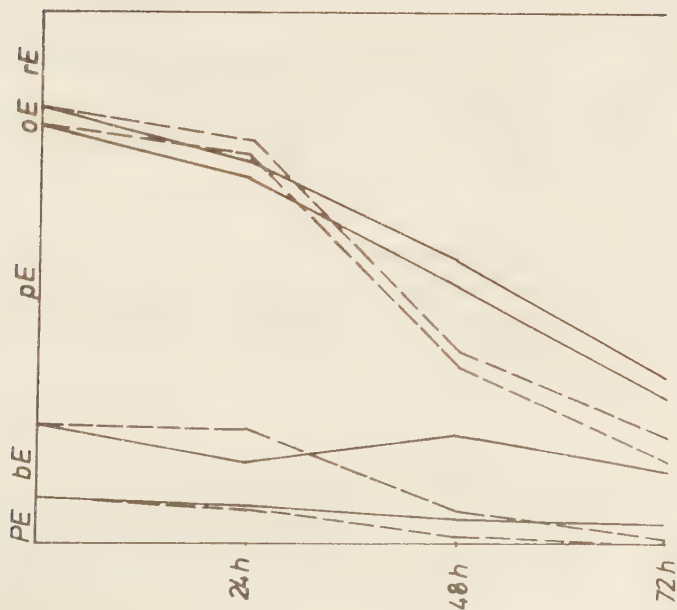
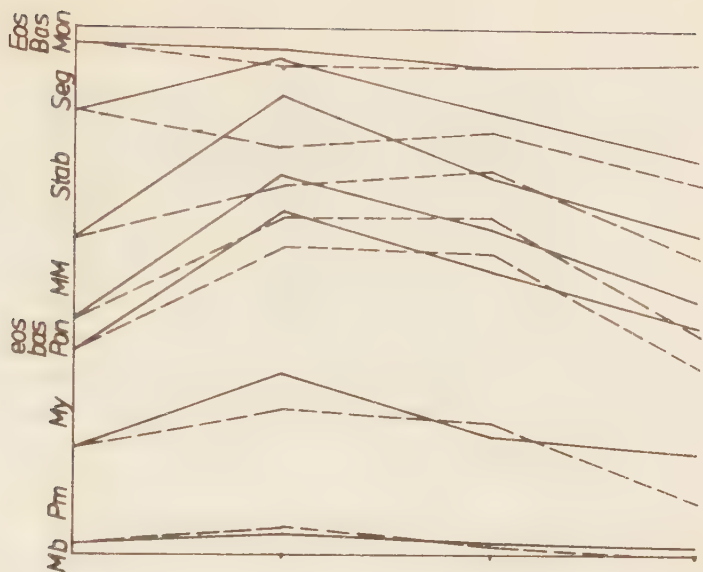


Abb. I

1) Reifungskurve der Erythropoese (siehe Abb. I)

Am zweiten und dritten Kulturtag fanden wir eine zum Teil starke Linksverschiebung der Reifungskurve unter dem Hormonzusatz. Am ersten Kulturtag war eine leichte Rechtsverschiebung der Kurve mit Verminderung der reifen Erythroblasten erkennbar. Die basophilen Erythroblasten traten zu diesem Zeitpunkt vermehrt auf, erfuhren unter Hormonzusatz am zweiten Kulturtag eine erhebliche Verminderung und sanken nach 72 Stunden auf Null ab.

2) Reifungskurve der Granulopoese (siehe Abb. I)

Die 24-Stunden-Zusatzkultur zeigte durch Corticosteron eine Linksverschiebung mit Zunahme der reifen Zellformen. Nach 48h fand sich eine geringe Rechtsverschiebung, wobei das Verhältnis von reifen zu unreifen Zellen mit und ohne Hormonzusatz gleich blieb. Beim 72-Stunden-Präparat war wieder eine Linksverschiebung zu erkennen. Die Berechnung ergab eine statistische Signifikanz für alle drei Beobachtungszeitpunkte (siehe Anhang, Tafel 1a, b, c).

3) G/E-Index (Seite 43)

Die G/E-Indices (siehe Tabelle 1) lagen während aller Kulturtage in den Zusatzkulturen unter den Werten der Kontrollkulturen.

4) Mitoseindices (Seite 45)

An allen Kulturtagen ließen die Mitoseindices der Erythropoese (siehe Tabelle 2a) in den Zusatzkulturen eine unwesentliche Verkleinerung gegenüber der Kontrollkultur erkennen.

Der weiße Mitoseindex (siehe Tabelle 2b) zeigte nach 24 und 48 Stunden eine geringe Erhöhung zugunsten der Zusatzpräparate. Nach 72 Stunden waren in der Zusatzkultur keine Mitosen zu zählen.

Versuch II:

Knochenmark des Patienten K, M.: 28 Jahre

Klinische Diagnose: abklingende hämolytische Anämie

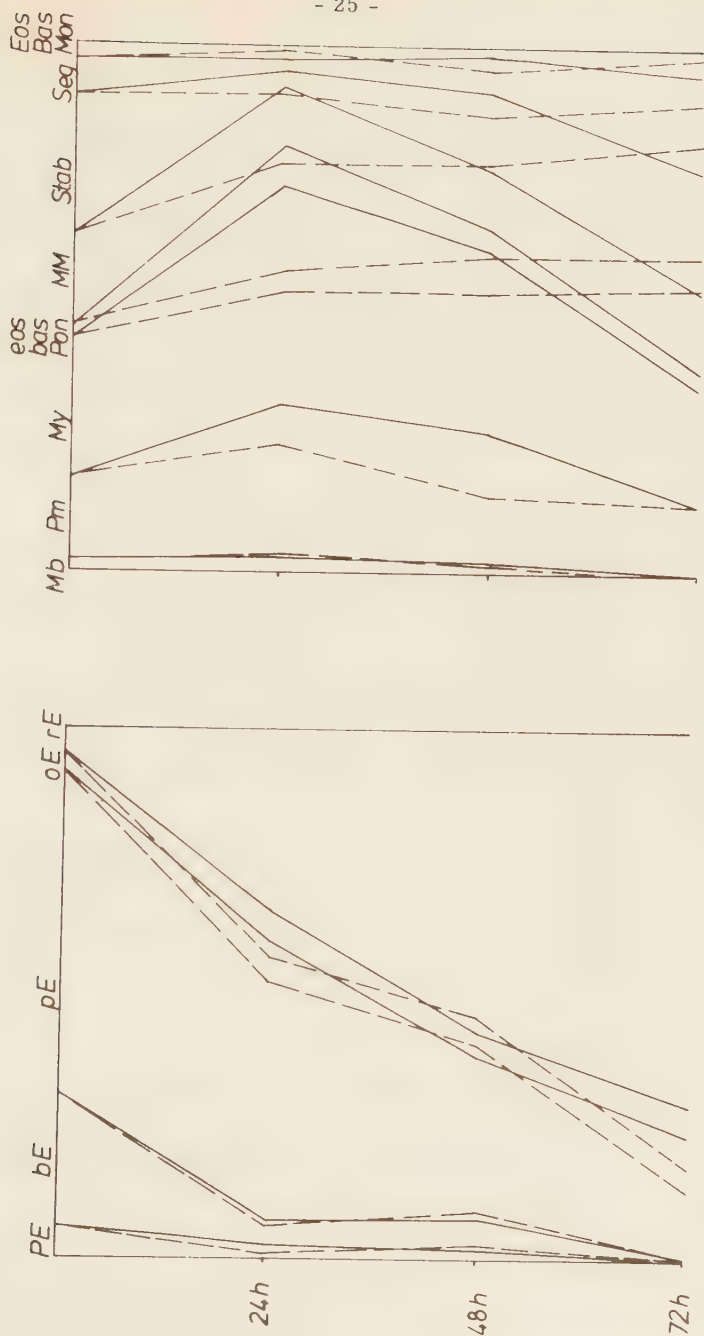
Keine Therapie zur Zeit der Sternalpunktion

Blutbild am Tage der Sternalpunktion:

Hb	= 11,8 g %
Erythrocyten	= 4,32 Mill/ μ l
Hb _E	= 27,2 pg
Thrombocyten	= 298000 / μ l
Leucocyten	= 5700 / μ l
Basophile	= 2 %
Eosinophile	= 2 %
Stabkernige	= 3 %
Segmentkernige	= 74 %
Lymphocyten	= 15 %
Monocyten	= 4 %
Anisocytose	= (+)
Polkilocytose	= (+)
Reticulocyten	= 9 ‰

Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit: 155/164

Abb. II



1) Reifungskurve der Erythropoese (siehe Abb. II)

Nach 24 und 72 Stunden wurde eine Linksverschiebung mit Zunahme der oxyphilen und reifen Erythroblasten in der Zusatzkulturkurve gefunden. Am zweiten Kulturtag erkannten wir eine geringe Rechtsverschiebung der Zusatzkultur gegenüber der Kontrollkultur. Die Kurven für die Proerythroblasten und basophilen Erythroblasten hatten sich unter Corticosteroneinfluß nur unwesentlich verändert.

2) Reifungskurve der Granulopoese (siehe Abb. II)

Am ersten Kulturtag bemerkten wir eine Linksverschiebung der Zusatz-Kultur-Kurve mit einer Zunahme der stabkernigen und segmentkernigen Granulocyten. Auch am zweiten Kulturtag wurde noch eine zum Teil geringe Linksverschiebung der Zusatz-Kultur-Kurve beobachtet, wobei das Verhältnis von reifen zu unreifen Zellformen an beiden Kulturtagen unverändert blieb. Nach 72 Stunden lag eine Rechtsverschiebung der Zusatz-Kultur-Kurve vor. Man fand eine starke Verminderung der stab- und segmentkernigen Granulocyten. Die ermittelten Werte zeigten nach 24, 48 und 72 Stunden statistische Signifikanz (siehe Anhang, Tafel 2a, b, c).

3) G/E-Index

Nach 24 und 48 Stunden erkannten wir beim Corticosteronzusatz eine geringfügige Erhöhung, während nach 72 Stunden eine Erniedrigung des G/E-Indexes (siehe Tabelle 1) vorlag.

4) Mitoseindices

In der Erythropoese (siehe Tabelle 2a) war der Mitoseindex nach Corticosteronzusatz am ersten Kulturtag erniedrigt und am zweiten Kulturtag gering erhöht. Am Dritten traten keine Mitosen auf. Auch in der Granulopoese (siehe Tabelle 2b) wurde für die Zusatzkultur nach 24 Stunden eine Verminderung und nach 48 Stunden keine Erhöhung der Mitoseaktivität gefunden. Nach 72 Stunden lag wieder eine Erniedrigung des Mitoseindex für die Zusatzkultur vor.

Versuch III:

Knochenmark des Patienten Z, W.: 71 Jahre

Klinische Diagnose: Retothelsarkom, Herzinsuffizienz,
Niereninsuffizienz

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion:

Über fünf Tage 600 mg Endoxan^R
per os. Am ersten Tag 2 mg
Vincristin^R.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion:

Hb	= 13,1 g %
Erythrocyten	= 4,48 Mill/ μ l
Hb _E	= 30,0 pg
Thrombocyten	= 173000 / μ l
Leucocyten	= 5300 / μ l
Eosinophile	= 2 %
Stabkernige	= 7 %
Segmentkernige	= 74 %
Lymphocyten	= 11 %
Monocyten	= 6 %

Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit: 24/56

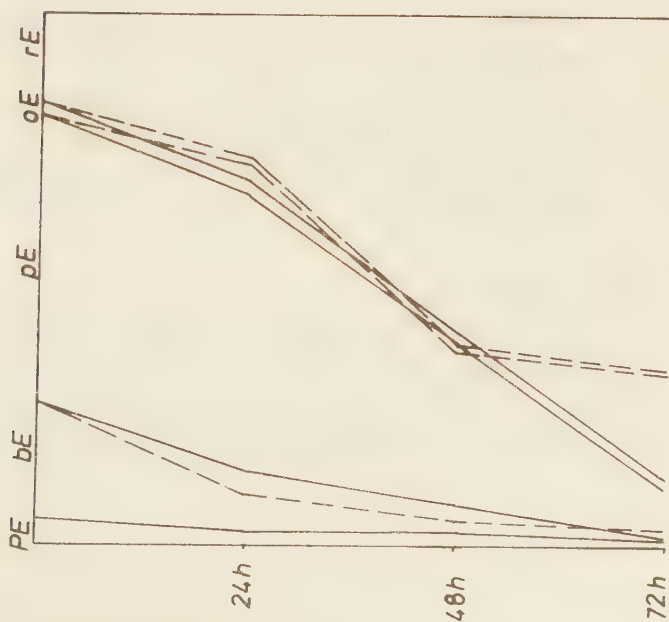
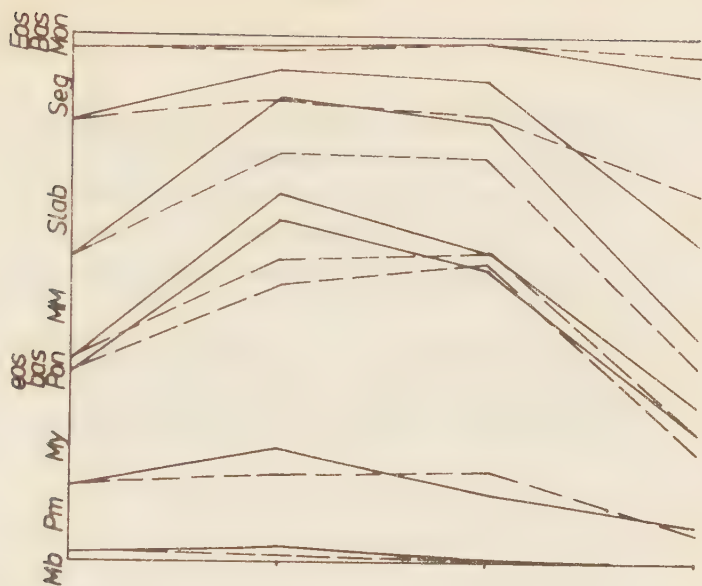


Abb. III

1) Reifungskurve der Erythropoese (siehe Abb. III)

Nach 24 und 72 Stunden zeigte die Reifungskurve der roten Reihe im Corticosteron-Präparat eine Rechtsverschiebung. Am zweiten Kulturtag waren Kontrollkultur- und Zusatzkulturkurve praktisch deckungsgleich. Die Reifungskurven der Proerythroblasten ließen keinen Unterschied erkennen. Bei den basophilen Erythroblasten fand man nach 24 und 48 Stunden unter Corticosteronzusatz eine leichte Rechtsverschiebung der Kurve.

2) Reifungskurve der Granulopoese (siehe Abb. III)

Die Reifungskurve des Zusatzpräparates ließ nach dem ersten Bebrütungstag eine Linksverschiebung gegenüber der Kurve des Kontrollpräparates erkennen. Nach 48 Stunden war das Verhältnis von reifen zu unreifen Zellen erhalten geblieben, wobei immer noch eine Vermehrung der reifen Zellarten gegenüber den entsprechenden der Kontrollkultur vorlag. Auch am dritten Kulturtag war die Reifungskurve des Corticosteronpräparates bis auf die Segmentkernigen nach links verschoben. Das ausgewertete Zahlenmaterial zeigte für alle Zeiträume Signifikanz (siehe Anhang, Tafel 3a, b, c).

3) G/E-Index

Am zweiten Kulturtag war das Verhältnis von weißen und roten Zellen zugunsten der Zusatzkulturen erhöht, während am ersten und dritten Kulturtag die Indices (siehe Tabelle 1) in den Zusatzkulturen verkleinert waren.

4) Mitoseindices

In der Erythropoese (siehe Tabelle 2a) fanden wir am ersten Kulturtag eine Erniedrigung des Mitoseindex in der Zusatzkultur. Nach 48 und 72 Stunden waren in den Zusatzpräparaten keine Mitosen mehr gezählt worden.

In der Granulopoese (siehe Tabelle 2b) konnte am ersten und dritten Kulturtag in der Zusatzkultur eine geringfügige Erhöhung beobachtet werden, während am zweiten Tag eine Erniedrigung des Mitoseindex auftrat.

Versuch IV:

Knochenmark des Patienten S, W.: 69 Jahre

Klinische Diagnose: Retikuloze,
Phimose

Keine Therapie zur Zeit der Sternalpunktion

Blutbild am Tage der Sternalpunktion:

Hb	= 11,8 g %
Erythrocyten	= 3,05 Mill/ μ l
Hb _E	= 39 pg
Thrombocyten	= 74000 / μ l
Leucocyten	= 6100 / μ l
Eosinophile	= 5 %
Stabkernige	= 1 %
Segmentkernige	= 55 %
Lymphocyten	= 39 %

Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit: 63/102

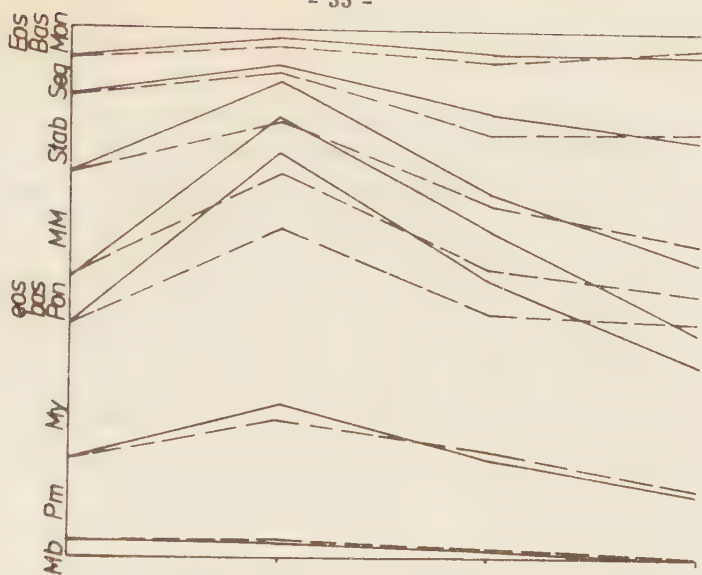
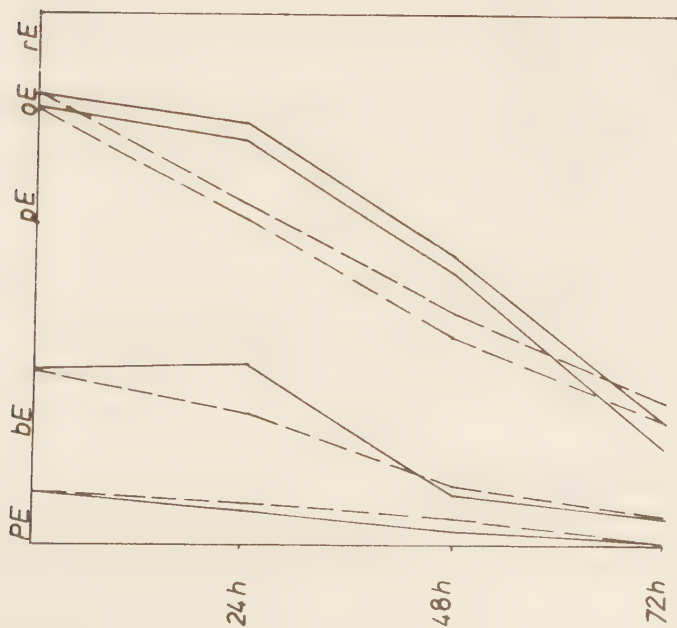


Abb. IV



1) Reifungskurve der Erythropoese (siehe Abb. IV)

Nach der Bebrütungszeit von 24 und 48 Stunden wurde in der Zusatzkultur eine Linksverschiebung der Reifungskurve mit verstärktem Auftreten der reifen Erythroblasten erkennbar, während nach 72 Stunden die Kurven von Zusatzkultur und Kontrollkultur nahezu deckungsgleich verliefen. Auch die Reifungskurve der basophilen Erythroblasten war nach 24 Stunden nach links verschoben. Am zweiten und dritten Kulturtag unterschied sich die Zusatzkultur-Kurve kaum von der Reifungskurve der Kontrollkultur.

2) Reifungskurve der Granulopoese (siehe Abb. IV)

Für die 24- und 48-Stunden-Zusatzkultur wurde eine zunächst stärkere und dann geringer werdende Linksverschiebung der Reifungskurve sichtbar. Nach 72 Stunden trat eine Rechtsverschiebung der Zusatzkultur-Kurve auf, die zum Teil für die verschiedenen Zellarten nur sehr gering war. Die Auswertung der Granulopoese war für alle Zeitpunkte statistisch signifikant (siehe Anhang, Tafel 4a, b, c).

3) G/E-Index

Am zweiten Kulturtag konnte eine Erhöhung, am ersten und dritten Tag eine Erniedrigung des G/E-Indexes (siehe Tabelle 1) im Corticosteron-Präparat bemerkt werden.

4) Mitoseindices

In der Erythropoese (siehe Tabelle 2a) war der Mitoseindex nach 24 Stunden unter Corticosteronzusatz erhöht,

während er nach 48 Stunden unter den Kontrollwert sank. Am dritten Kulturtag traten in der Kontrolle und im Zusatz-Präparat keine Mitosen auf.

In der Granulopoese (siehe Tabelle 2b) wurde an allen drei Kulturtagen eine Vermehrung der Mitoseaktivität in der Corticosteron-Kultur festgestellt. Die Differenz war nach 24 Stunden am größten und verringerte sich dann ständig.

Versuch V:

Knochenmark der Patientin F, A.: 62 Jahre

Klinische Diagnose: Polycythaemia vera und Zustand
nach apoplektischem Insult mit
rechtsseitiger Hemiparese.

Therapie zur Zeit der Sternalpunktion:

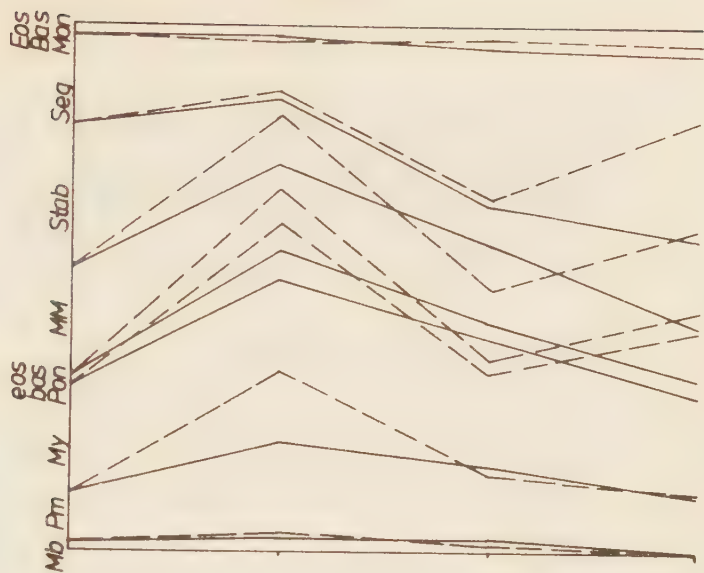
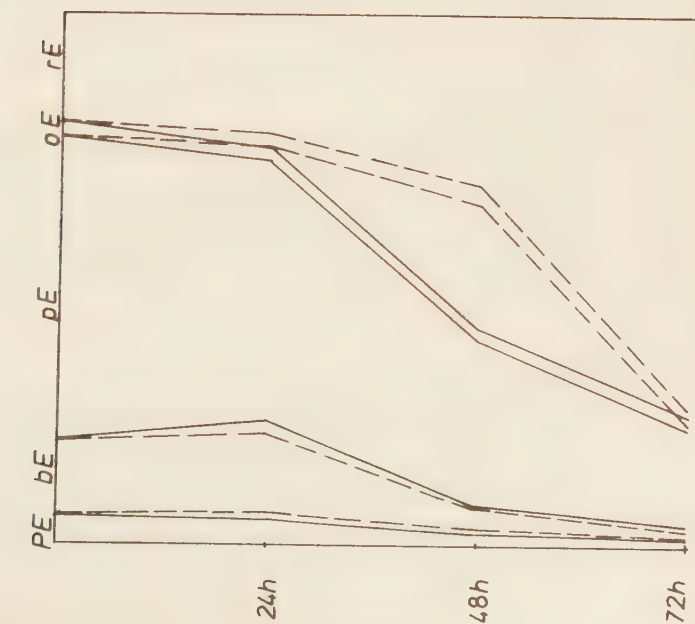
In letzter Zeit wurde keine Thera-
pie durchgeführt, früher P^{32} i. c.

Blutbild am Tage der Sternalpunktion:

Hb	= 13,0 g %
Erythrocyten	= 4,28 Mill/ μ l
Hb _E	= 30,0 pg
Thrombocyten	= 146000 / μ l
Leucocyten	= 5000 / μ l
Stabkernige	= 9 %
Segmentkernige	= 60 %
Lymphocyten	= 27 %
Monocyten	= 4 %

Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit: 19/35

Abb. V



1) Reifungskurve der Erythropoese (siehe Abb. V)

Nach einer Kulturdauer von 48 Stunden wurde eine erhebliche Rechtsverschiebung der Reifungskurve für die Zusatzkultur ablesbar. Am ersten und dritten Kulturtag waren die Kurven so gut wie deckungsgleich.

2) Reifungskurve der Granulopoese (siehe Abb. V)

Am ersten und dritten Kulturtag konnte eine zum Teil erhebliche Rechtsverschiebung der Reifungskurve für die Corticosteron-Zusatzkultur mit einer Verringerung der reifen Zellarten bemerkt werden. Nach 48 Stunden ergab sich für die reifen Zellformen eine Vermehrung, die sich in einer Linksverschiebung der Reifungskurve des Zusatzpräparates ausdrückte. Die Verminderung der Zellausreifung war zu allen drei Beobachtungszeitpunkten statistisch signifikant (siehe Anhang, Tafel 5a, b, c).

3) G/E-Indices

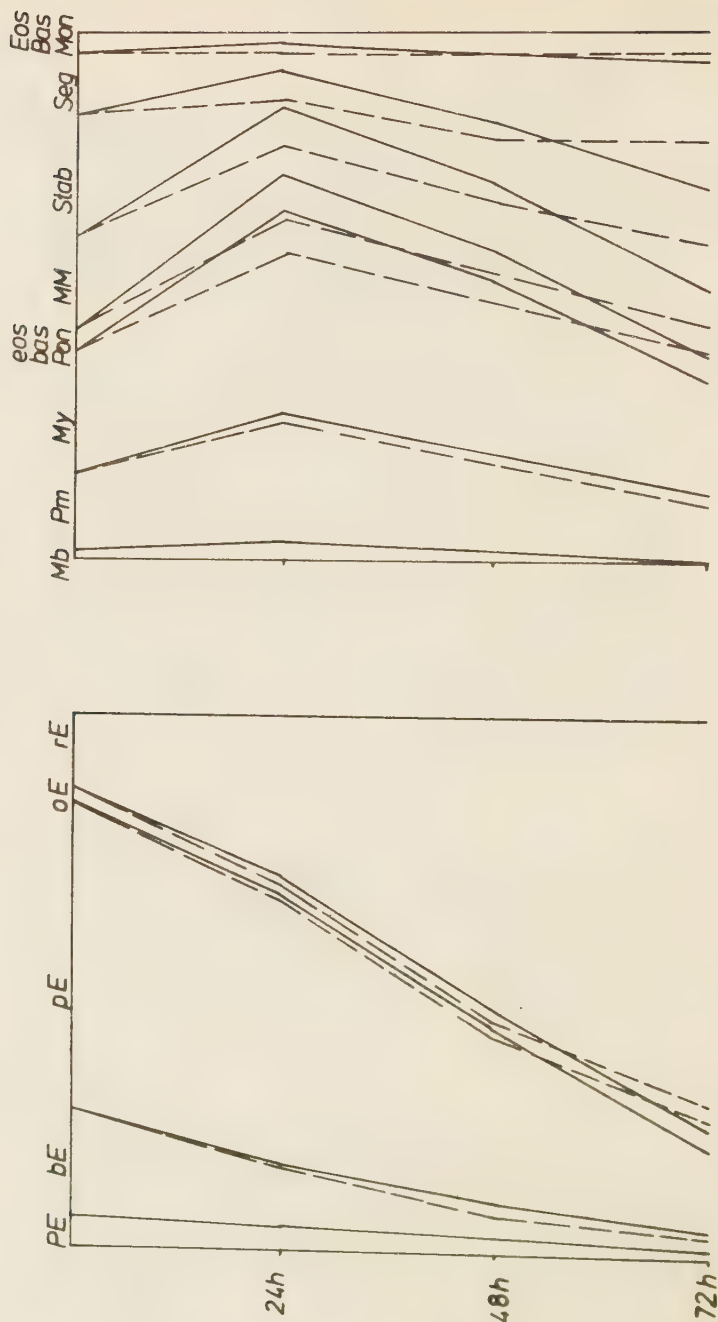
Der G/E-Index (siehe Tabelle 1) lag am zweiten Kulturtag für die Zusatzkultur erheblich höher als bei der Kontrolle. Am ersten und dritten Kulturtag war eine Verkleinerung des G/E-Indexes für die Zusatzkultur erkennbar.

4) Mitoseindices

In der Erythropoese (siehe Tabelle 2a) verkleinerten sich die Mitoseindices an den beiden ersten Kulturtagen für die Hormonkulturen. Am dritten Tag wurden sowohl in der Kontrollkultur als auch in der Zusatzkultur keine Mitosen gefunden.

Die Mitoseaktivität verringerte sich in der Granulopoese nach 24 Stunden für die Corticosteron-Kultur (siehe Tabelle 2b). Nach 48 Stunden wurde eine Erhöhung der Mitoseaktivität verzeichnet, die dann nach 72 Stunden auf Null abfiel. Auch im Kontrollpräparat traten am dritten Tag keine Mitosen auf.

Abb. VI: Mittelwertskurve der Versuche I - IV



6. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

In einem zusätzlichen Diagramm wurden alle ausgezählten Zellen der fünf einzelnen Versuche zusammengefaßt und die Kontrollauszählungen den Zusatzpräparaten gegenübergestellt. So wurde die Mittelwertskurve errechnet (Abb. VI). Die Mitoseindices und die G/E-Indices wurden ebenfalls aus den Gesamtzählungen ermittelt und in Tabellen zusammengefaßt.

1. Reifungskurve der Erythropoese (siehe Abb. VI)

Aus den gemittelten Reifungskurven der Erythropoese ergab sich folgendes Bild:

Die Kurve der Zusatzkultur war praktisch deckungsgleich mit der Kontrollkulturkurve. Der Zusatz von 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Corticosteron wirkte sich also kaum auf die Reifung der Erythropoese aus.

2. Reifungskurve der Granulopoese (siehe Abb. VI)

Die gemittelten Reifungskurven der Granulopoese zeigten für die Zusatzkultur nach 24 und 48 Stunden eine Verminderung aller unreifen Zellen und eine Vermehrung der segmentkernigen Granulocyten. Diese Linksverschiebung könnte auf eine Verminderung der teilungsfähigen Zellen zurückzuführen sein. Während die Werte der reifen Granulocyten und auch die der Myelocyten sich nach 72 Stunden verringerten, vermehrten sich die Stab- und Segmentkernigen nicht wie in den Kontrollversuchen. Bis 72 Stunden setzte eine Reifungshemmung der granulocytopoetischen Reihe ein. Für die einzelnen Fälle ließ sich eine signifikante Abnahme der teilungsfähigen Zellen unter Corticosteroneinfluß nach 24 und 48 Stunden

nachweisen, während nach 72 Stunden eine statistisch gesicherte Verminderung der reifen Granulocyten vorlag (siehe Anhang, Tafeln 1 - 5a, b, c).

3. G/E-Index

Dieser Index diente dazu, das Verhältnis zwischen den Zellen der Granulopoese und denen der Erythropoese zu ermitteln. Zunächst fanden wir den gemittelten 24-Stunden-Wert unter dem Wert zur Stunde 0 (Tabelle 1). Dann stiegen die Werte ständig bis zu 72 Stunden für beide Kulturen mit und ohne Zusatz an. Der G/E-Index war nach 48 Stunden für die Zusatzkultur größer und nach 24 und 72 Stunden kleiner als der entsprechende Index der Kontrollkultur.

Tabelle 1: G/E-Indices

Kontrollen				
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h
I	5,83	3,19	6,45	4,53
II	5,13	1,20	2,86	9,20
III	2,43	1,95	2,15	4,35
IV	4,22	4,90	2,74	2,96
V	5,46	2,67	4,31	7,57
Summe	23,07	13,91	18,51	28,61
Mittelwert	4,61	2,78	3,70	5,72

1 µg/ml Corticosteron

Fall	24 h	48 h	72 h
I	2,52	3,85	3,99
II	1,48	3,25	8,56
III	1,78	2,43	3,17
IV	2,93	4,37	2,62
V	2,35	7,32	4,17
Summe	11,06	21,22	22,51
Mittelwert	2,21	4,24	4,50

4. Mitoseindices

Um die Auswirkung des zugesetzten Corticosterons auf die Knochenmarkregeneration zu prüfen, verglichen wir die ermittelten Mitoseindices der Kontrollpräparate mit denen der Zusatzpräparate.

In der Erythropoese (Tabelle 2a) fielen die Mittelwerte der Mitoseindices von 24 bis 72 Stunden kontinuierlich ab. Das galt sowohl für die Kontrollkultur als auch für die Kulturen mit Corticosteronzusatz, wobei die Mittelwerte der Zusatzkulturen unter den entsprechenden Werten der Kontrollkultur lagen. Der Mittelwert zur Stunde Null war kleiner als der 24-Stunden-Wert in Kontroll- und Zusatzkultur. Corticosteron schien danach die Regeneration der Erythropoese zu hemmen.

Die Mittelwerte der Mitoseindices in der Granulopoese (Tabelle 2b) waren für die Zusatzkultur erhöht, lediglich am dritten Kulturtag war der Mittelwert etwas kleiner als bei der Kontrollkultur. Der 24-Stunden-Wert erhöhte sich in Kontroll- und Zusatzkultur verglichen mit der Stunde Null.

Tabelle 2a: Mitoseindices der Erythropoese in ‰

Kontrollen				
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h
I	17,24	19,35	15,88	9,80
II	13,20	13,28	9,21	0
III	12,60	16,50	8,77	0
IV	18,12	23,62	14,86	0
V	4,58	14,32	7,46	0
Summe	65,74	87,07	56,18	9,80
Mittelwert	13,14	17,41	11,23	1,96

1 µg/ml Corticosteron

Fall	24 h	48 h	72 h
I	18,18	15,03	9,43
II	11,62	10,36	0
III	10,08	0	0
IV	25,97	12,90	0
V	11,84	6,17	0
Summe	77,69	44,46	9,43
Mittelwert	15,54	8,89	1,88

Tabelle 2b: Mitoseindices der Granulopoese in ‰

Kontrollen				
Fall	0 h	24 h	48 h	72 h
I	6,18	8,90	5,93	2,16
II	8,60	12,50	7,14	2,40
III	7,41	10,20	2,87	0
IV	4,46	5,54	4,14	1,30
V	4,95	8,62	2,38	0
Summe	31,60	45,76	22,46	5,86
Mittelwert	6,32	9,15	4,49	1,17

1 µg/ml Corticosteron				
Fall	24 h	48 h	72 h	
I	12,00	6,61	0	
II	10,47	7,46	0,74	
III	11,60	2,79	1,91	
IV	12,80	7,75	2,72	
V	7,51	6,88	0	
Summe	54,38	31,49	5,37	
Mittelwert	10,88	6,30	1,07	

Um den Einfluß des Corticosterons auf die retikulären Zellen und auf die Lymphocyten zu erfahren, verglichen wir die Mittelwerte der Kontrollpräparate mit denen der Zusatzausstriche. Die Werte beziehen sich auf die Gesamtzahl der gezählten Zellen.

5. Große Retikulumzellen (Abb. VIIa)

Die Mittelwerte der Zusatzkulturen (Tabelle 3a) lagen während der gesamten Kulturzeit etwas höher als die der Kontrollpräparate. Nach 48 Stunden wurde die Zahl der großen Retikulumzellen für beide Kulturen kleiner, um dann nach 72 Stunden wieder anzusteigen und den Mittelwert für 24 Stunden zu überschreiten. Corticosteron bewirkte bei den großen Retikulumzellen eine Vermehrung der Zellzahlen, die jedoch statistisch bis auf den 24-Stunden-Wert nicht gesichert war (siehe Anhang, Tafel 7a, b, c).

6. Kleine Retikulumzellen (Abb. VIIb)

Bei den kleinen Retikulumzellen verhielt es sich ähnlich. Auch hier sank der Mittelwert (Tabelle 3b) für 48 Stunden unter den 24-Stunden-Wert. Der Corticosteronzusatz sorgte bei den kleinen Retikulumzellen jedoch für eine Verminderung der Zellzahlen. Nach 72 Stunden lag der Wert für den Zusatz jedoch höher. Die Unterschiede waren, wie bei den großen Retikulumzellen, bis auf den ersten Kulturtag nicht signifikant (siehe Anhang, Tafel 8a, b, c).

Abb. VIIa:

Mittelwerte der großen Retikulumzellen

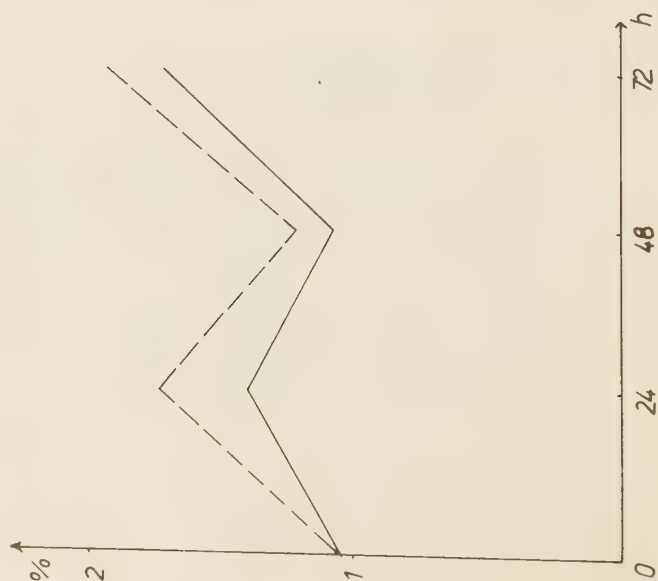


Abb. VII b:

Mittelwerte der kleinen Retikulumzellen

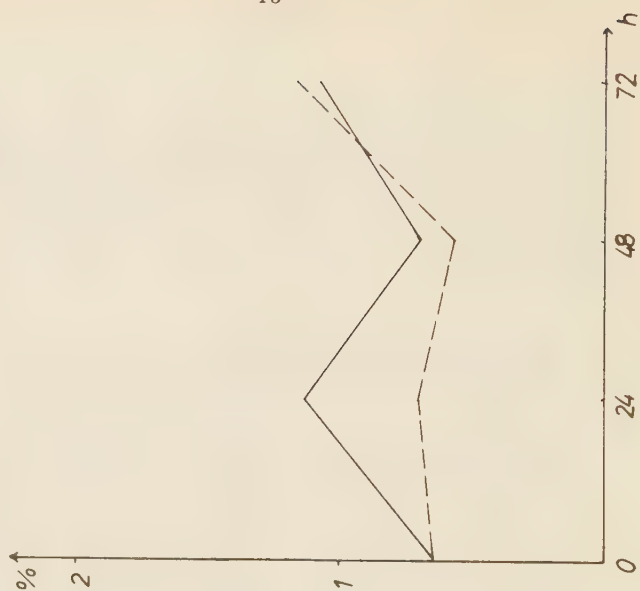


Tabelle 3a: Anzahl der großen Retikulumzellen bezogen auf die Gesamtzellzahl

Kontrolle								
Fall	0 h	%	24 h	%	48 h	%	72 h	%
I	10	0,48	31	1,45	25	1,27	39	1,90
II	22	1,01	37	1,80	18	0,80	35	1,76
III	34	1,60	20	0,96	35	1,70	57	2,78
IV	17	0,81	13	0,63	8	0,38	24	1,14
V	29	1,40	43	2,14	25	1,21	24	1,17
Summe	112	5,30	144	6,69	111	5,36	179	8,73
Mittelwert	22,4	1,06	28,8	1,40	22,2	1,07	35,8	1,75

1 µg/ml Corticosteron

Fall	24h	%	48h	%	72h	%
I	55	2,60	33	1,63	27	1,33
II	39	1,84	61	2,86	81	3,79
III	22	1,06	14	0,68	15	0,75
IV	44	2,13	15	0,72	44	2,18
V	25	1,21	5	0,24	32	1,65
Summe	185	8,84	128	6,13	189	9,70
Mittelwert	37	1,76	25,6	1,23	37,8	1,94

Tabelle 3b: Anzahl der kleinen Retikulumzellen bezogen auf die Gesamtzellzahl

Kontrolle								
Fall	0h	%	24h	%	48h	%	72h	%
I	12	0,58	28	1,31	11	0,56	12	0,59
II	19	0,87	34	1,65	11	0,49	11	0,55
III	7	0,33	21	1,01	37	1,80	42	2,05
IV	10	0,48	13	0,63	8	0,38	20	0,95
V	18	0,87	22	1,09	8	0,39	25	1,22
Summe		3,13		5,69		3,62		5,36
Mittelwert		0,62		1,14		0,72		1,07

1 µg/ml Corticosteron								
Fall			24h	%	48h	%	72h	%
I			14	0,66	20	0,98	34	1,67
II			15	0,71	19	0,89	27	1,26
III			9	0,43	9	0,43	11	0,54
IV			23	1,11	8	0,38	24	1,18
V			18	0,87	5	0,23	40	2,06
Summe				3,78		2,91		6,71
Mittelwert				0,75		0,58		1,34

7. Lymphocyten (Abb. VIII)

In der Kontrollkultur fiel die Lymphocytenzahl von 0 bis 48 Stunden stetig ab, um nach 72 Stunden wieder leicht zuzunehmen (Tabelle 4). Auch in der Zusatzkultur war der 24-Stunden-Wert am größten. Der geringste Wert wurde nach 48 Stunden erreicht und stieg dann nach 72 Stunden wieder an. Alle Mittelwerte der Zusatzkultur lagen unter den Werten der Kontrollkultur. Danach schien Corticosteron eine Hemmung des lymphocytären Gewebes nach sich zu ziehen. Die Signifikanzberechnung ergab, daß die Unterschiede signifikant waren (siehe Anhang, Tafel 9a, b, c).

Abb. VIII :

Mittelwerte der Lymphocyten

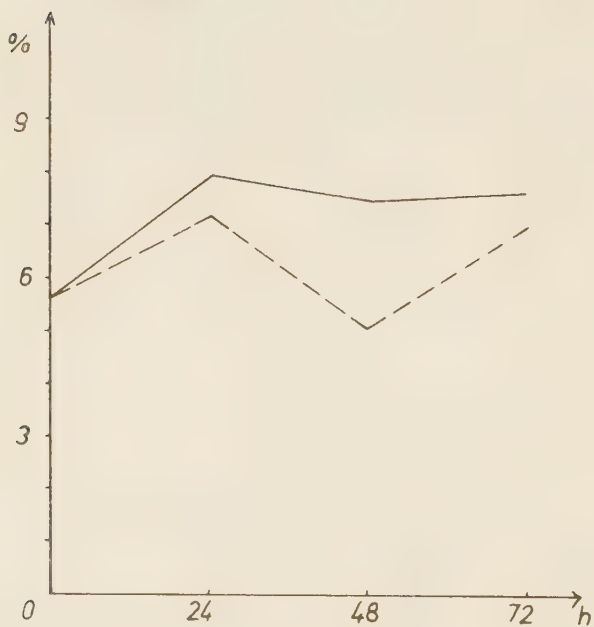


Tabelle 4: Anzahl der Lymphocyten bezogen auf die Gesamtzellzahl

Kontrolle								
Fall	0h	%	24h	%	48h	%	72h	%
I	75	3,62	210	9,82	131	6,64	144	7,03
II	145	6,64	188	9,14	187	8,33	176	8,83
III	71	3,34	161	7,74	141	6,84	114	5,56
IV	95	4,55	77	3,72	108	5,20	199	9,44
V	209	10,09	185	9,20	218	10,59	145	7,07
Summe	28,24		39,62		37,60		37,93	
Mittelwert	5,65		7,92		7,52		7,59	

1 µg/ml Corticosteron

Fall	24h	%	48h	%	72h	%
I	204	9,63	108	5,32	122	6,02
II	178	8,38	194	9,10	153	7,15
III	119	5,72	43	2,10	92	4,60
IV	121	5,85	126	6,07	228	11,29
V	141	6,84	62	2,96	117	6,03
Summe	36,42		25,55		35,09	
Mittelwert	7,28		5,11		7,0	

7. BEURTEILUNG DER KARYOLOGISCHEN KURVE

Wir verwerteten die Mitosen aller Fälle mit Ausnahme der Originalpräparate, da es hierfür keine vergleichbaren Ausstriche gibt.

Erläuterungen zu den Abbildungen IXa und IXb

Auf der Abszisse sind die verschiedenen Mitosephasen dargestellt:

- P = Prophase
- fM = frühe Metaphase
- sM = späte Metaphase
- A = Anaphase
- T = Telophase
- R = Rekonstruktionsphase

Auf der Ordinate wird der prozentuale Anteil an den Mitosephasen aufgetragen.

a) Rote Reihe

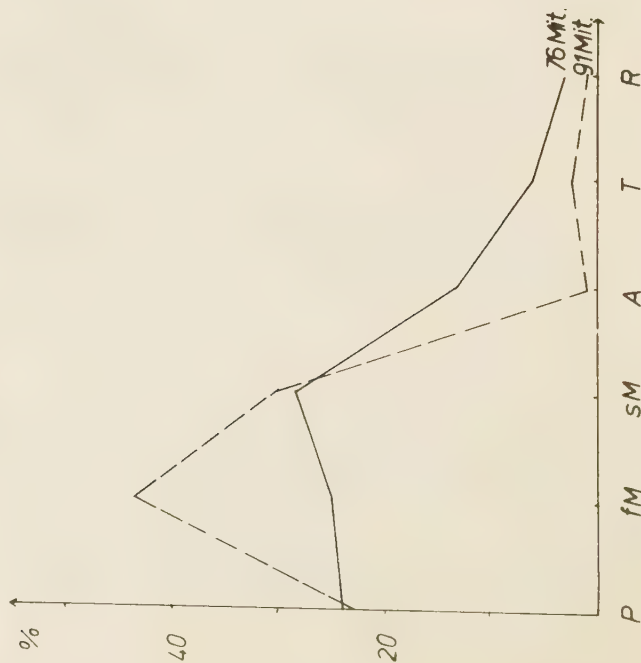
In der Kontrollkultur wurden 43 Mitosen und in der Hormonkultur 38 Mitosen gezählt (Tabelle 5). Im Vergleich mit der karyologischen Durchschnittskurve traten in der Kontrollkurve recht viele frühe Metaphasen auf. Auch unter Corticosteroneinfluß wurde bei den frühen Metaphasen ein stark ausgeprägter Kurvengipfel gefunden. Die karyologische Kurve sank dann schnell über die späten Metaphasen bis auf Null ab. Anaphasen, Telophasen und Rekonstruktionsphasen wurden in der roten Reihe unter Corticosterongabe nicht beobachtet.

b) Weißer Reihe

In der Kontrollkultur wurden 76 und in der mit Corticosteron angesetzten Kultur 91 Mitosen gezählt (Tabelle 5). Die Verteilung der Mitosen der Granulopoese in der Kontrollkultur entsprach in ihrem Verlauf den karyologischen Durchschnittskurven. In der Zusatzkurve fand man in der frühen Metaphase einen Kurven-
gipfel. Die Kurve fiel dann über die späten Metaphasen
steil zu den Anaphasen ab. Bei der Telophase bemerkten wir noch einmal eine geringfügige Vermehrung, die auf zwei gezählten Mitosen beruhte, um dann zur Rekonstruktionsphase wieder abzusinken. Man hatte den Eindruck, daß Corticosteron die Mitosen nach der späten Metaphase zu verhindern sucht. Für die Kurvenpunkte der frühen Metaphase in Kontroll- und Zusatzkultur wurde jeweils in der Granulopoese und Erythropoese eine Signifikanzberechnung durchgeführt. Die aufgetretenen Unterschiede waren in der Granulopoese statistisch signifikant (siehe Anhang, Tafel 10a und 10b). In diesem Zusammenhang bedeutet die Erhöhung des Mitoseindex (Tabelle 2b) keine Vermehrung der Regeneration, sondern sie ist vielmehr die Folge der Mitosehemmung.

Abb. IX: Karyologische Kurve

Granulopoese



Erythropoese

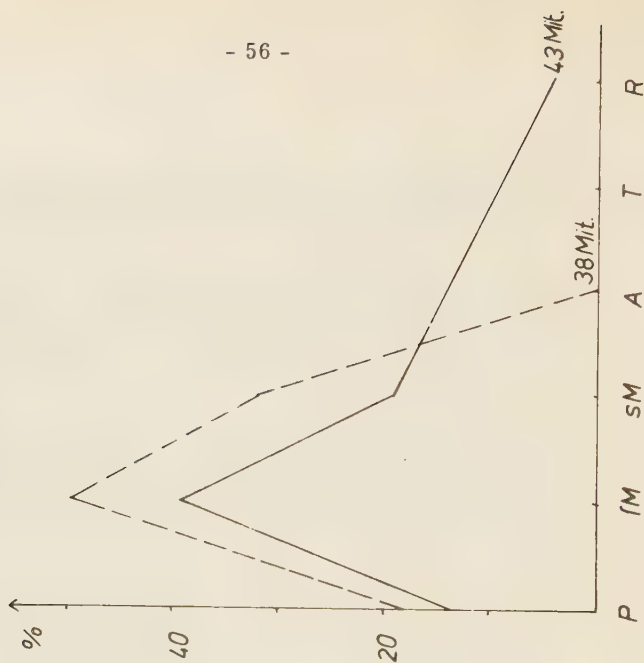


Tabelle 5: Verteilung der Mitosephasen von 248 gezählten Mitosen für die Erythropoese und die Granulopoese ohne Berücksichtigung des Originalpräparates

Erythropoese	P	fM	sM	A	T	R	Summe
Kontrollen	6	17	8	6	4	2	43
in %	13,95	39,54	18,60	13,95	9,30	4,65	100
Corticosteron	7	19	12	-	-	-	38
in %	18,42	50,0	31,58				100

Granulopoese	P	fM	sM	A	T	R	Summe
Kontrollen	18	19	21	10	5	3	76
in %	23,68	25,00	27,63	13,16	6,58	3,95	100
Corticosteron	21	39	27	1	2	1	91
in %	23,08	42,86	29,67	1,10	2,19	1,10	100

8. DISKUSSION

An fünf Serien von Knochenmarkkulturen wurde der Einfluß von Corticosteron auf nicht leukämisches menschliches Knochenmark im Vergleich zu Kontrollkulturen untersucht.

Die Reifungskurven und G/E-Indices ermöglichten einen Aufschluß über die Reifung der Knochenmarkzellen, während uns die Mitoseindices und karyologischen Kurven eine Beurteilung der Regenerationsfähigkeit erlaubten. Wir verglichen die Proliferationsaktivität der Knochenmarkkulturen unter Corticosteronzusatz mit den Kontrollkulturen.

In der Literatur sind nur wenige Arbeiten zu finden, die sich mit der Einwirkung von verschiedenen Corticosteroiden auf menschliches Knochenmark in vitro befassen. Es sind zwar einige Versuche durchgeführt worden, um den Einfluß von Corticosteroiden auf die Proliferationskinetik der Granulopoese und Erythropoese zu untersuchen, jedoch sind sie im Hinblick auf die Versuchsbedingungen nicht einheitlich. Auch ist ein Vergleich dieser Arbeiten schwer möglich, da unterschiedliche Corticosteroidkonzentrationen verwendet wurden. Daher sind die Arbeiten aus unserem Arbeitskreis (58, 17, 18, 52, 59) von größerer Aussagekraft, da sie unter gleichen Versuchsbedingungen und mit der gleichen Corticoidkonzentration durchgeführt worden sind.

Zu diesen Reihenuntersuchungen gehörten die Versuche von GLÖCKLER (26), der mit einer Konzentration von 0,25 μ g/ml Corticosteron gearbeitet hat. Es bewirkte eine Regenerationshemmung in der Erythropoese. Die Ausreifung der Erythroblasten wurde kaum beeinflusst. In der Granulopoese fand sich eine mäßige Reifungshemmung, während

die Regeneration nicht einheitlich verändert wurde.

Da die Dosis von 0,25 $\mu\text{g/ml}$ sicher unter der Wirkungsäquivalenz lag, konnte vermutet werden, daß eine höhere Dosis doch eine Wirkung auf die Knochenmarkzellproliferation haben würde.

Durch den Zusatz der viermal höheren Dosis von 1 $\mu\text{g/ml}$ Corticosteron ließ sich eine geringere Regenerationshemmung in der Erythropoese als durch 0,25 $\mu\text{g/ml}$ (26) feststellen. Diese Regenerationshemmung fand ihren Ausdruck in den Mitoseindices, die für den Zusatz in allen Versuchen unter denen der Kontrollkultur lagen. Auch WEISSENFELS und BOLL (58) fanden unter Triamcinolonzusatz und Prednisolonacetat ein Absinken des Erythroblastenmitoseindexes.

Die Reifung der Erythroblasten wurde wie durch 0,25 $\mu\text{g/ml}$ Corticosteron (26) nicht beeinflußt, denn die Reifungskurven der Kontroll- und Zusatzkultur wiesen bei der Darstellung der Mittelwertskurve keinen Unterschied auf.

Aus unserer karyologischen Kurve (Abb. IXb) ist in der Erythropoese für die frühen Metaphasen unter Hormonzusatz ein stärker ausgeprägter Kurvengipfel zu beobachten. Der Unterschied von 11 % war jedoch nicht signifikant, da er durch zwei Mitosen hervorgerufen und damit für die Berechnung der Zahlenwerte nicht ausreichend groß war. Aus der graphischen Darstellung ist jedoch eine Tendenz zum verstärkten Auftreten der frühen Metaphasen abzulesen. Auch durch Zugabe von Triamcinolon (58) ergab sich eine Zunahme der frühen und späten Metaphasen trotz erheblicher Verminderung des Mitoseindexes der Erythroblasten.

Auf die Granulopoese wurde durch die viermal höhere Konzentration von 1 $\mu\text{g/ml}$ Corticosteron eine geringe Erhöhung

des Mitoseindex erreicht, die durch die karyologische Kurve ihre Ursache wie bei Triamcinolon in der Verzögerung des Mitoseablaufes hat.

Unter unserem Hormonzusatz traten vermehrt frühe Metaphasen auf (Abb. IXa). Für den Unterschied der ermittelten Werte ließ sich sogar eine statistische Signifikanz berechnen. Die Mitosephasenvermehrung könnte die geringe Mitosevermehrung erklären, so daß die Mitosevermehrung keine Förderung der Regeneration bedeutet, sondern eine Verlängerung der Mitosedauer darstellt. Bei der niedrigeren Konzentration (26) wurde die Regeneration nicht verändert, es zeichnete sich eine geringere Verschiebung zu den Metaphasen ab. Auch durch Zugabe von Triamcinolon (58) kam es zu einem verstärkten Auftreten der frühen und späten Metaphasen. Bei Prednisolonzusatz zeigte sich eine Zunahme nur der späten Metaphasen.

Durch unseren Corticosteronzusatz wurde die Reifung der Granulopoese gehemmt. Die Ausreifung zu segment- und stabkernigen Granulocyten war vermindert. In den Reifungskurven der granulopoetischen Reihe wurde für alle Beobachtungszeitpunkte eine statistische Signifikanz nachgewiesen. Durch Zugabe der geringeren Corticosteronkonzentration erzielte GLÖCKLER (27) eine gleich starke Reifungshemmung in der weißen Reihe. So wurde auch durch Zusatz von Prednisolonacetat, Triamcinolon, Prednisolonsulfat bzw. Fluorcortolon (58, 17, 18, 52, 37) eine Reifungshemmung in der Granulopoese erreicht.

Wie auch durch andere Glucocorticosteroide, Prednison, Fluorcortolon, Prednisolonacetat und Triamcinolon (1, 37,

58) konnte in dieser Arbeit durch den Corticosteronzusatz eine signifikante Verminderung des lymphocytären Gewebes nachgewiesen werden. Unter Zusatz von 0,25 μ g/ml Corticosteron (26) blieb die Lymphopoese unbeeinflusst.

Unterschiedlich fielen die Ergebnisse bei den Retikulumzellen aus. So konnte durch den Zusatz von 1 μ g/ml Corticosteron wie auch von 0,25 μ g/ml Corticosteron (26) und durch Fluorocortolon (37) nach 24 Stunden eine signifikante Vermehrung der Zellzahlen der großen Retikulumzellen erreicht werden. Die Zahl der kleinen Retikulumzellen erfuhr durch unseren Zusatz eine signifikante Verringerung nach 24 Stunden, obgleich 0,25 μ g/ml Corticosteron (26) nach 72 Kulturstunden eine signifikante Vermehrung dieser Zellen hervorrief. Mit Prednisolonacetat und Triamcinolon (58) wurde auch eine signifikante Abnahme der Retikulumzellen erzielt.

Die gezählte Anzahl der Plasmazellen war zu gering, um hier genaue Aussagen über die Wirkung des Corticosterons machen zu können.

Das Verhalten der Proliferation der Erythropoese ist konzentrationsunabhängig, d. h. durch Corticosteron wird nur die Regeneration durch beide Dosierungen gehemmt.

In der Granulopoese ließ sich jedoch durch die stärkere Konzentration von 1 μ g/ml Corticosteron eine signifikante Reifungshemmung und eine Mitoseablaufverzögerung erzielen.

Damit wirkt sich das körpereigene Hormon Corticosteron in der Konzentration von 1 μ g/ml hemmend auf die Hämatopoese aus. Die Konzentration von 1 μ g/ml Corticosteron entspricht der 100-fach verstärkten physiologischen Konzentration des im Körper vorkommenden Hormons. Die nicht sehr ausgeprägte Hemmung drückt sich in einer Verminderung der Re-

generation in der Erythropoese, einer Verlängerung des Mitoseablaufes in der Granulopoese und in einer Verzögerung der Ausreifung zu segment- und stabkernigen Granulocyten aus. Somit verhält sich Corticosteron ähnlich wie Prednisolonacetat, Triamcinolon, Prednisolonsulfat und Fluorcortolon (58, 52, 37) in niedriger Dosierung.

9. ZUSAMMENFASSUNG

In der dargestellten Untersuchung wurde die direkte Einwirkung von 1 μ g/ml Corticosteron auf die Proliferation von nicht leukämischen menschlichen Knochenmarkzellen in vitro untersucht.

Es wurde für die Granulopoese eine signifikante Reifungshemmung und eine geringe Mitoseablaufverzögerung durch den Corticosteronzusatz nachgewiesen. In der Erythropoese wurde nur die Regeneration im Sinne einer geringen Hemmung beeinflusst. Auf die Ausreifung der Erythroblasten zeigte Corticosteron keine Wirkung.

Die Lymphopoese wurde durch den Zusatz von 1 μ g/ml Corticosteron signifikant zurückgedrängt.

Die Wirkung auf die Zellen des retikulären Gewebes waren unterschiedlich. So erfuhren die großen Retikulumzellen eine Vermehrung, die nach 24 Stunden signifikant war, während die kleinen Retikulumzellen vermindert wurden, wobei für den ersten Kulturtag ebenfalls eine Signifikanz nachgewiesen werden konnte.

Der Wirkungsunterschied zwischen einer Konzentration von 0,25 μ g/ml und 1 μ g/ml Corticosteron besteht in folgendem: In der Granulopoese wurde für beide Konzentrationen fast die gleiche Reifungshemmung festgestellt, aber im Gegensatz zur geringeren Zusatzkonzentration trat bei Zusatz von 1 μ g/ml Corticosteron eine Regenerationshemmung auf.

In der Erythropoese fand sich bei beiden Zusatzkonzentrationen eine sehr geringe Reifungshemmung und eine Regenerationshemmung, die für 0,25 μ g/ml Corticosteron stärker ausgeprägt war als bei der höheren Konzentration von 1 μ g/ml Corticosteron.

10. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Baserga, A., Morsiani, U. M.: Regeneration des lymphatischen Gewebes nach Prednison. Schweiz. med. Wschr. 91, 1190 (1961)
- 2) Batra, K. V., Elrod, L. M., Schreck, R.: Species differences in the in vitro sensitivity of lymphocytes to Prednisolone and x-rays. J. Pharm. exp. Ther. 152, 525 (1966)
- 3) Beikert, A.: Die Glucocorticoid-Therapie innerer Erkrankungen VEB Fischer Verlag Jena (1968)
- 4) Belitz, H. -J.: Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie in der "Mathematikunterricht". Heft 3/60 Klett Verlag, Stuttgart (1960)
- 5) Björk, G., Böttiger, L. E., Orinus, E.: Leucocytosis during corticosteroid therapy. Acta med. scand. 176, 1, (1964)
- 6) Boll, I.: Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkzellen in vitro-Granuloblastenmitosen. Fol. haemat. N. F. 3, 78 (1959)
- 7) Boll, I.: Haemozytoblasten in der Knochenmarkkultur. Proc. 10th Congr. Europ. Soc. Haemat., Strasbourg 1965
- 8) Boll, I.: Granulopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen. (Springer Verlag, Heidelberg 1966)

- 9) Boll, I., Mersch, G., Schoen, S., Göttke, U.,
Boxheimer, D., Lucke, G.:
Hormoneinwirkung auf die Prolifera-
tionskinetik humaner Knochen-
markkulturen.
Klin. Wschr. 46, 610 (1968)
- 10) Boll, I., Mersch, G.: Morphologische Untersuchungen
zur Proliferationskinetik der nor-
malen und pathologischen Erythro-
poese in vitro.
Blut 17, 193 (1968)
- 11) Boll, I.: Die Proliferationskinetik der normalen und
leukämischen Granulopoese.
Fol. haemat. N. F. 91, 172 (1969)
- 12) Boll, I.: Leitfaden der cytologischen Knochenmark-
Diagnostik.
Band 11 der Reihe "Hämatologie
und Bluttransfusion".
(I. F. Lehmanns Verlag München
1972)
- 13) Boseila, A. A.: Hormonal influence on blood and tissue
basophile granulocytes.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 103, 394
(1963)
- 14) Bullough, W. S.: Stress and epidermal mitotic activity.
I. The effects of the adrenal
hormones.
I. Endocr. 8, 265 (1951/52)
- 15) Bullough, W. S.: The energie relation of mitotic activity.
Biol. Rev. 27, 133 (1952)
- 16) Cardinali, G., De Caro, B. M., Handler, A. H.,
Aboul-Enein, M.: Effect of high
doses of cortisone on bone marrow
cell proliferation in the Syrian
hamster.
Cancer Res. 24, 969 (1964)

- 17) Christoph, B.: Die Einwirkung von Triamcinolon auf menschliches Knochenmark in vitro (ausgewertet im Giemsa-Präparat und mit alkalischer Leucocytenphosphatase).
Diss. (Berlin 1972)
- 18) Christoph, U.: Die Einwirkung von Prednisolonacetat auf menschliches Knochenmark in vitro (ausgewertet im Giemsa-Präparat und mit alkalischer Leucocytenphosphatase).
Diss. (Berlin 1972)
- 19) Dontenwill, W., Hilscher, W., Frank, H.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirkung hoher Dosen Cortison und ACTH.
Klin. Wschr. 33, 725 (1955)
- 20) Farnes, P., Barker, B. E.: Effect of Prednisolone on human bone marrow cultures.
Metabolism. 14, 1 (1965)
- 21) Fieschi, A., Sacchetti, C.: La cultura "in vitro" del midollo osseo: Applicazioni di interesse clinico.
Minerva Med. 50, 4267 (1959)
- 22) Fieschi, A., Sacchetti, C.: Clinical assessment of granulopoiesis.
Acta haemat. (Basel) 31, 150 (1964)
- 23) Fleischer, J.: Die Wirkung längerer Gaben von Prednisolon und Endoxan auf das Knochenmark des Kaninchens.
Folia haemat., N. F. 7, 323 (1963)
- 24) Fruhmann, G. J., and Gordon, A.: Effects of growth hormone and cortisol upon haemopoiesis.
Acta haemat. 15, 249 (1956)

- 25) Gabourel, I. D., and Arnow, L.: Growth inhibition of Hydrocortisone on mouse lymphoma ML-388 in vitro.
J. Pharm. exp. Ther. 136, 213 (1962)
- 26) Glöckler, C.: Die Einwirkung von Corticosteron und Hydrocortison auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss., Berlin (in Vorbereitung)
- 27) Halvorsen, S.: Effects of ACTH on erythropoiesis in the rabbit.
Acta physiol. scand. 58, 30 (1963)
- 28) Hansen, H. G., Schön, H.: Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Hypophysen-Adrenalsystems auf die Blutzellensysteme.
Acta haemat. 10, 77 (1953)
- 29) Hansen, H. G.: Über den Wirkungsmechanismus der NNR-Hormone am lymphatischen System.
6. Europ. Haemat. Kongr., Kopenhagen 1957
- 30) Heckmann, U.: Zur Prednisolonwirkung auf Malignomzellen in der Gewebekultur.
Med. Welt 18, 1483 (1967)
- 31) Hudson, G., Herdan, G., Yoffey, J. M.: Effect of repeated injections of ACTH upon the bone marrow.
Brit. med. J. 1, 999 (1952)
- 32) Hunstein, W., Strey, M.: Zur Wirkung von Prednisolon auf die H₃-Thymidin-Einbaurate in Knochenmarkzellen von Ratten.
Klin. Wschr. 43, 52 (1965)
- 33) Hunstein, W., Reisert, P. M.: Das Verhalten des Knochenmarks bei der Tierexperimentellen Eiweißmangelanämie unter Behandlung mit anabolen Steroiden.
Blut 15, 142 (1967)

- 34) Hübener, H. J.: Die physiologische Funktion der NNR-Hormone als Enzym-Induktoren.
Dt. Med. Wschr. 87, 438 (1962)
- 35) Hübener, H. J., Staib, W. H.: Biochemie der Nebennierenrinden-Hormone.
Thieme Stuttgart 1965
- 36) Kaiser, H.: Cortisonderivate in Klinik und Praxis.
Thieme Stuttgart 1968
- 37) Koch, M.: Die Einwirkung von Fluorcortolon auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss. (Berlin 1976)
- 38) Lasnitzky, J., Willmer, E. N.: Cells and tissue in culture.
London: Acad. Press 19, 656 (1965)
- 39) Marcieira, C. A.: Action of cortisone on human fibroblasts in vitro.
Experientia 22, 390 (1961)
- 40) Marciera-Collno, A.: Action of Cortisone on human fibroblasts in vitro.
Experientia (Basel) 22, 390 (1966)
- 41) Meissner, J., Hansen, H. G., Wolff, U.: Zum Wirkungsmechanismus des Cortisons auf den Nukleinsäurestoffwechsel.
2. Jahrestagg. Ges. Nuclear Med., Heidelberg 1964
(in Hoffmann: Radionukleide)
- 42) Morrison, J. H., Toepfer, J. R.: Cellular changes in the bone marrow following chronic treatment of rats with cortisol.
Acta haemat. 38, 250 (1967)
- 43) Müller, D.: Die Wirkung von Prednisolon auf das gesunde menschliche Knochenmark und auf Leukaemiezellen.
10. Europ. Haematolog. Kongr., Straßburg 1965

- 44) Patau: X^2 -Tafeln
Zeitschrift für Vererbungslehre
80, 558 (1940)
- 45) Peschle, C., Condorelli, M.: Studies on the effects of hormones on erythropoiesis in mice.
13. Intern. Haemat. Kongr. München 1970, ste II
- 46) Pfeiffer, E. F., Sandritter, W., Schöffling, K.:
Thymusmitosehemmung als quantitativer Nachweis der Nebennierenrinden-Aktivierung im Tierexperiment.
Klin. Wschr. 30, 1023 (1952)
- 47) Rappay, G., Fazekas, I., Ggévai, A.: Effect of hydrocortisone on growth in vitro of fibroblastlike (FL) cells derived from rat organs.
Acta Med. Acad. Sci. Hung. 25, 451 (1968)
- 48) Rasche, B., Ulmer, W. T.: Glucocorticoideinwirkung auf Wachstum und Stoffwechsel permanenter Fibroblastenkulturen in Abhängigkeit von Konzentration und Expositionsdauer.
Z. Zellforschung 84, 506 (1968)
- 49) Roberts, K. B., Florey, H. W., Jorlik, W. K.:
The influence of cortisone on cell division.
Quart. J. exp. Physiol. 37, 239 (1952/53)
- 50) Rozen, V. B., Chermin, L. S.: The effect of various glucocorticoid doses on the growth of single-layer connective tissue cultures.
Patol. Fiziol. Eksp. Terapiya 8, 59 (1964)

- 51) Ruhmann, G., Berliner, D. L.: Effects of steroids on growth of mouse fibroblasts in vitro.
Endocrinol. 76, 916 (1965)
- 52) Schellack, A.: Die Einwirkung von Prednisolonsulfat auf menschliches Knochenmark in vitro.
Diss., Berlin (in Vorbereitung)
- 53) Shen, S. C., Hoshino, T.: Study of humoral factors regulating the production of leukocytes. I. Demonstration of a "neutropoietin" in the plasma after administration of triamcinolone to rats.
Blood 17, 434 (1961)
- 54) Taifour, A.-H.: Autoradiographische Untersuchungen an Glucocorticoid-vorbehandelten Mäusefibroblasten-Kulturen.
Diss. (Mannheim 1968)
- 55) Thomas, K., Seibler, E.: Knochenmark in vitro unter dem Einfluß cyto statischer und hormoneller Substanzen.
Folia haemat., N. F. 4, 2 (1960)
- 56) Undricov, M. J., Rozen, V. B., Chermin, L. S.: Rolle der Glucocorticoid-Hormone in der Pathogenese des experimentellen Rheumatismus.
Vopr. reumat., Moskwa, 4, 7 (1964)
- 57) Wellington, J. S., Moon, H. D.: Effect of Hydrocortisone on human cells in tissue culture.
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 107, 556 (1961)
- 58) Weissenfels, I., Boll, I.: Einwirkung von Corticosteroiden (Prednisolonacetat und Triamcinolon) auf menschliches Knochenmark in vitro.
Klin. Wschr. 51, 907 - 914 (1973)

- 59) Wilde, G.: Die Einwirkung von Dexamethasonsulfat auf menschliches Knochenmark in vitro. Diss. (Berlin 1974)
- 60) Yoffey, J. M., Aucill, R. J., Holt, J. A. G., Owensmith, B., Herdan, G.: A quantitative study of the effects of compound E, F and A upon the bone marrow of the guinea-pig. J. Anatomy 88, 115 (1954)

11. ANHANG

(statistische Berechnungen)

Tafel 1: χ^2 -Test der Granulopoese für den Versuch I

a) 24 Stunden				b) 48 Stunden				c) 72 Stunden			
Zell- typ	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2		Kon- trolle	Zusatz	χ^2	
Mb	57	60	0.4707	31	27	0.0876		28	10	7.8630	
Pm	421	302	11.6502	321	336	1.8440		262	137	34.5948	
My	443	406	0.0290	492	471	0.0667		367	377	0.7775	
eos	63	34	6.6286	87	57	4.5775		50	72	4.8432	
bas	1	3	1.1583	8	6	0.1781		0	2	2.0770	
Pon	37	34	0.0014	23	40	5.6738		24	14	2.2683	
MM	216	84	48.6125	156	129	1.1910		194	216	2.1582	
Stab	100	88	0.1281	197	120	14.3653		213	208	0.0207	
Seg	29	210	151.2942	129	173	9.3439		284	329	5.2231	
Eos	22	46	10.3939	71	56	0.9841		34	35	0.0769	
Bas	0	4	4.3138	2	4	0.7933		2	9	4.7245	
Mon	27	42	4.4979	39	46	1.0763		53	46	0.2660	
Summe	1416	1313	239.1787	1556	1465	40.1814		1511	1455	64.8930	

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

$p < 3 \cdot 10^{-5}$ (signifikant)

$p < 10^{-9}$ (signifikant)

Tafel 2: χ^2 -Test der Granulopoese für den Versuch II

Zell- typ	a) 24 Stunden			b) 48 Stunden			c) 72 Stunden		
	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2
Mb	21	26	0.0530	15	8	1.7702	0	0	0.0000
Pm	281	237	12.9731	365	189	46.8387	196	201	0.0347
My	405	325	24.4383	516	549	3.5869	347	690	98.9425
eos	62	37	10.5397	54	81	6.9632	38	84	15.3913
bas	3	2	0.3743	3	3	0.0044	3	6	0.8731
Pon	8	6	0.6551	6	8	0.4043	7	12	1.1060
MM	110	235	29.0543	168	241	17.2867	242	351	15.5440
Stab	31	153	64.4256	220	147	10.8505	368	129	125.7224
Seg	19	87	34.4556	113	134	3.1033	298	147	58.1087
Eos	13	10	0.9559	13	26	5.0682	70	12	43.6308
Bas	4	3	0.3276	4	4	0.0058	6	3	1.1366
Mon	16	5	7.5170	5	14	4.7670	7	18	4.3713
Summe	973	1126	185.7698	1482	1404	100.6491	1582	1653	364.8614

$p < 10^{-10}$ (signifikant) $p < 10^{-10}$ (signifikant) $p < 10^{-10}$ (signifikant)

Tafel 3: χ^2 -Test der Granulopese für den Versuch III

Zell- typ	a) 24 Stunden			b) 48 Stunden			c) 72 Stunden		
	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2
Mb	28	18	2.1416	7	12	0.8029	9	9	0.0081
Pm	232	182	5.8775	156	221	4.9571	89	75	0.6745
My	535	441	8.7509	533	565	0.9134	262	210	3.7339
eos	46	43	0.0916	12	6	2.7650	59	51	0.2917
bas	7	7	0.0000	9	5	1.6589	3	9	3.2619
Pon	14	13	0.0339	12	14	0.0094	16	3	8.3547
MM	219	253	2.5607	318	255	16.2048	194	168	0.9264
Stab	69	122	14.8793	100	115	0.0302	269	479	68.2496
Seg	57	115	19.7468	85	189	28.4385	487	368	11.8970
Eos	18	19	0.0304	4	6	0.2025	83	36	16.6270
Bas	4	5	0.1144	6	3	1.3825	6	6	0.0054
Mon	6	13	2.6017	10	15	0.5062	13	14	0.0918
Summe	1235	1231	56.8288	1252	1406	57.8714	1490	1428	114.1219

$p < 5 \cdot 10^{-8}$ (signifikant)

$p < 5 \cdot 10^{-8}$ (signifikant)

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

Tafel 4: χ^2 -Test der Granulopoese für den Versuch IV

Zell- typ	a) 24 Stunden			b) 48 Stunden			c) 72 Stunden		
	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2
Mb	31	39	1.9339	15	20	0.3046	0	9	10.0139
Pm	429	337	3.5931	246	283	0.2178	154	144	0.1168
My	774	530	23.9738	474	413	12.4758	347	394	10.1292
eos	93	127	9.3839	108	107	0.6362	72	42	5.0338
bas	3	5	0.7302	4	0	4.4182	0	2	2.2253
Pon	14	20	1.7750	21	26	0.1515	8	15	2.8507
MM	107	147	11.1447	100	191	20.1835	184	129	4.7023
Stab	50	130	44.4288	214	209	1.6038	317	248	2.6821
Seg	84	72	0.0995	160	217	3.8947	226	196	0.1336
Eos	11	23	5.5821	28	52	5.0253	35	20	2.6552
Bas	0	2	2.2181	3	0	3.3137	0	4	4.4506
Mon	21	26	1.1778	33	35	0.0280	20	22	0.4292
Summe	1617	1458	106.0408	1406	1553	52.2530	1363	1225	45.5226

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

$p < 3 \cdot 10^{-7}$ (signifikant)

$p < 5 \cdot 10^{-6}$ (signifikant)

Tafel 5: χ^2 - Test der Granulopoese für den Versuch V

Zell- typ	a) 24 Stunden			b) 48 Stunden			c) 72 Stunden		
	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2	Kon- trolle	Zusatz	χ^2
Mb	31	31	0.0095	18	13	2.1026	9	7	0.0344
Pm	228	400	42.9480	216	241	0.8607	166	148	0.1457
My	399	372	1.7335	350	348	7.1549	308	437	47.5888
eos	31	69	13.5155	41	18	14.1704	39	15	7.2647
bas	4	3	0.1687	3	0	3.6511	0	8	9.3686
Pon	33	20	3.5196	9	20	2.3189	11	24	7.1390
MM	209	178	3.3116	202	238	0.1148	168	218	16.8582
Stab	155	64	40.1082	110	312	61.7791	269	292	8.1015
Seg	152	132	1.9481	436	531	0.0001	584	206	126.9871
Eos	17	17	0.0052	55	30	13.1886	48	7	24.5963
Bas	2	0	2.0502	1	3	0.6530	4	8	2.0510
Mon	14	21	1.2321	15	18	0.0016	30	27	0.0393
Summe	1275	1307	110.5502	1456	1772	105.9958	1636	1397	250.1746

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

Tafel 6: χ^2 -Test für die gezählten Mitosen der weißen
Reihe nach 24 und 48 Stunden bezogen auf die Ge-
samtzellzahl der teilungsfähigen Zellen

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
Mitosen	71	86	2.2927
Rest	10623	10081	0.0174
Summe	10694	10167	2.3100

$p > 0,05$ (nicht signifikant)

Tafel 7: χ^2 -Test für die großen Retikulumzellen bezogen
auf die Gesamtzellzahl

a) 24 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
GROR	144	185	4.7382
REST	10212	10267	0.0761
Summe	10356	10452	4.8143

$p < 0,03$ (noch signifikant)

b) 48 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
GROR	111	128	1.2604
REST	10307	10259	0.0146
Summe	10418	10387	1.2750

$p = 0,25$ (nicht signifikant)

c) 72 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
GROR	179	199	0.7435
REST	10070	10227	0.0138
Summe	10249	10426	0.7574

$p > 0,05$ (nicht signifikant)

Tafel 8: χ^2 -Test für die kleinen Retikulumzellen bezogen auf die Gesamtzellzahl

a) 24 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
KLER	118	79	8.0850
REST	10238	10373	0.0773
Summe	10356	10452	8.1623

$p < 0,005$ (signifikant)

b) 48 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
KLER	75	61	1.3998
REST	10343	10326	0.0092
Summe	10418	10387	1.4090

$p > 0,05$ (nicht signifikant)

c) 72 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
KLER	120	136	0.7449
REST	10129	10290	0.0093
Summe	10249	10426	0.7542

$p > 0,05$ (nicht signifikant)

Tafel 9: χ^2 -Test für die Lymphocyten bezogen auf die
Gesamtzellzahl

a) 24 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
LYMP	821	763	2.6927
REST	9535	9689	0.2219
Summe	10356	10452	2.9146

$p = 0,049$ (noch signifikant)

b) 48 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
LYMP	785	533	47.4342
REST	9633	9854	3.2082
Summe	10418	10387	50.6424

$p < 10^{-10}$ (signifikant)

c) 72 Stunden

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
LYMP	778	712	4.1631
REST	9471	9714	0.3233
Summe	10249	10426	4.4864

$p = 0,035$ (noch signifikant)

Tafel 10a: χ^2 -Test für die Verteilung der Mitosephasen
in der Granulopoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
frühe Metaphase	19	39	3.8023
Rest d. Mitosen	57	52	2.0233
Summe	76	91	5.8256

$p = 0,015$ (noch signifikant)

Tafel 10b: χ^2 -Test für die Verteilung der Mitosephasen
in der Erythropoese

Zelltyp	Kontrolle	Zusatz	χ^2
frühe Metaphasen	17	19	0.4971
Rest d. Mitosen	26	19	0.3977
Summe	43	38	0.8948

$p > 0,05$ (nicht signifikant)

An dieser Stelle möchte ich Frau Professor Dr. med. Irene Boll für die Überlassung des Themas und ihre stetige und großzügige Unterstützung danken.

LEBENS LAUF

Am 22. 7. 1949 wurde ich als Tochter des Tapeziermeisters Carl Krause und seiner Ehefrau Käte, geb. Ulrich, in Bevensen geboren.

Im April 1956 wurde ich in die Volksschule Himbergen eingeschult und nach der bestandenen Aufnahmeprüfung an der Lesingschule Uelzen besuchte ich ab April 1960 dieses Gymnasium, an dem ich im Juni 1968 mein Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1968/69 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin. Nach dem Vorphysikum im September 1969 wechselte ich zum Studium der Zahnheilkunde über. Mein Physikum bestand ich im April 1971.

Im Februar 1973 heiratete ich den Zahnarzt Dr. Franz Zimny.

Mein Staatsexamen legte ich im Januar 1974 im Fach Zahnheilkunde ab. Am 1. Februar 1974 wurde mir die Bestallung als Zahnärztin erteilt.

Seit April 1974 arbeite ich bei meinem Mann in der Praxis als Assistentin.

